

Aus der Abteilung für Zahnerhaltung der Klinik für
Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Z Y T O L O G I S C H E P R Ü F U N G

D E S

P A R O D O N T A L T H E R A P E U T I K U M S

" S P E Z I A L - P A R O D O N T O S E - S A L B E "

Erfinder: Dr. Sacher/Rüsselsheim

A U F S E I N E B I O L O G I S C H E

W I R K S A M K E I T

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Würde des Doktorgrades der Zahnmedizin der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
dem Fachbereich Medizin vorgelegt

von Klaus Berger
aus Krefeld-Uerdingen
Mainz, 1984





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Abteilung für Zahnerhaltung der Klinik für
Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

ZYT O L Ö G I S C H E P R Ü F U N G
D E S
P A R O D O N T A L T H E R A P E U T I K U M S
" S P E Z I A L - P A R O D O N T O S E - S A L B E "

Erfinder: Dr. Sacher/Rüsselsheim

A U F S E I N E B I O L O G I S C H E
W I R K S A M K E I T

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Würde des Doktorgrades der Zahnmedizin der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
dem Fachbereich Medizin vorgelegt

von Klaus Berger
aus Krefeld-Uerdingen
Mainz, 1984

Dekan: Professor Dr. Dr. Ketterl

1. Gutachter: Professor Dr. Lampert

2. Gutachter: Professor Dr. Dr. Ketterl

Tag der Prömotion: 17. Oktober 1984

Ich bedanke mich bei Professor Dr. Lampert
für die Vergabe des interessanten Themas.

Desweiteren gilt mein besonderer Dank
Frau Ronge, MTA des zytologischen Labors der
Abteilung für konservierende Zahnheilkunde,
für die Hilfe bei der Zellzüchtung und
Anfertigung der Fotos, sowie
Dr. Heidemann für seine Beratung.

Inhaltsverzeichnis

Einleitung.....	Seite	4
Antibiotika und Chemotherapeutika		
Systemische Anwendung.....	Seite	7
Lokale Anwendung.....	Seite	13
Entzündungshemmer		
Systemische Wirkung durch Hemmung der Prostaglandinbildung....	Seite	17
Lokalwirkende Glukokortikoide.....	Seite	20
Gewebsauflösende und ätzende Wirkstoffe.....	Seite	23
Desinfektionslösungen.....	Seite	25
Die "Spezial-Parodontose-Salbe".....	Seite	29
"Spezial-Parodontose-Salbe" - Klinische Studie von 1971....	Seite	33
Eigene Untersuchungen		
Vorwort.....	Seite	34
Material und Methode		
Zellzüchtung.....	Seite	39
Versuchsaufbau.....	Seite	42
Auswertung.....	Seite	46
Ergebnisse.....	Seite	50
Tabellen.....	Seite	68
Diagramme.....	Seite	75
Bildanhang.....	Seite	80
Diskussion.....	Seite	97
Zusammenfassung.....	Seite	106
Literaturverzeichnis.....	Seite	109
Lebenslauf.....	Seite	116

Einleitung

Die gezielte und systematische Behandlung von Parodontalerkrankungen ist ein noch relativ junges Fachgebiet der Zahnheilkunde. So müssen wir uns leider damit abfinden, daß wir in den Lehrbüchern der Parodontologie immer noch umsonst eine einheitliche Terminologie und Einteilung der Krankheitsbilder suchen.

Da es kein Thema dieser Arbeit ist, über die verschiedenen Formen der parodontalen Erkrankung zu schreiben, möchte ich lediglich eine Einteilung vornehmen in entzündliche Erkrankungen, worunter die Gingivitis und Parodontitis fällt, in die dystrophisch degenerativen Erkrankungen, wie die Parodontose und Gingivose, meist vergesellschaftet mit Stoffwechselstörungen und Allgemeinerkrankungen, und zuletzt in die hyperplastischen Formen, wie man sie als obligat begleitendes Krankheitsbild am krassesten unter Diphenylhydantointherapie bei Epileptikern sieht, und die sich bei hormonellen Umstellungen des Körpers, z.B. in Pubertät und Schwangerschaft, bilden.

Je nach Schweregrad der Erkrankung des Parodontiums ist vom Zahnarzt die Indikation zu stellen für eine von drei Therapiemaßnahmen:

die einfache Kürettage, die Gingivektomie und die Lappenoperation zur restlosen Entfernung aller Granulationen und Konkremeate sowie der Wurzelzementglättung unter Sicht, zur Beseitigung bzw. Reduzierung von Knochentaschen und zur Exzision hyperplastischen Gewebes.

Sieht man einmal ab von den Hyperplasien der Epileptiker, die mit Diphenylhydantoin behandelt werden, und bei denen eine Gingivektomie nur dann Er-

folg bringt, wenn gleichzeitig das Medikament abgesetzt wird, und sieht man außerdem von den degenerativ dystrophischen Erkrankungen ab, die chronisch progredient sind und eine schlechte Prognose haben, so sind doch die anderen Krankheitsformen des Parodontiums durch eine der drei obengenannten Therapiemaßnahmen immer gut in den Griff zu bekommen. Es ist daher gar nicht verwunderlich, daß in vielen Lehrbüchern der Parodontologie (CHAIKIN¹, LANGE², ORBAN³) nichts geschrieben steht über eine medikamentöse eigenständige oder unterstützende Therapie.

Trotzdem ist es wahrscheinlich nicht übertrieben zu behaupten, daß die Suche nach einem medikamentösen Heilverfahren des erkrankten Parodontiums genauso alt ist wie die Parodontologie. Mittlerweile gibt es eine Reihe von Medikamenten, die bei der Therapie von Parodontopathien Anerkennung gefunden haben. Alle diese Medikamente dienen jedoch nur zur Unterstützung der instrumentellen PA-Behandlung. Lehrbücher, die ein kleines Kapitel der medikamentösen Therapie widmen, weisen in aller Deutlichkeit auf diesen Punkt hin.

So schreibt SAUERWEIN⁴ in "Zahnerhaltungskunde":

" Es gibt kein "Parodontose-Wundermittel"! Alle Mittel sind für die Therapie geeignet, die anti-phlogistisch wirken und die marginale Entzündung beseitigen. "

In seinem Lehrbuch "Clinical Periodontology" erklärt GLICKMAN⁵ (ich übersetze wörtlich):

" Die meisten Behandlungstechniken gingivaler und parodontaler Erkrankungen sind nicht abhängig von der Benutzung von Medikamenten; es gibt jedoch viele Situationen in der allgemeinen Beeinflussung parodontaler Störungen, in denen sie einen nützlichen Zweck erfüllen. "

Und zuletzt sollen RATEITSCHAK, RENGGLI, MÜHLEMANN⁶ zitiert werden:

" Es gibt keine medikamentöse Therapie der Parodontopathien. Medikamente sind immer nur Adjuvantien der mechanischen Lokalbehandlung. "

Viele dieser* Medikamente, die die Parodontalbehandlung unterstützen sollen, oder gar den Anspruch erheben, die mechanische Therapie ersetzen zu können, sind klinischen Untersuchungen unterworfen worden.

Man kann sie in folgende Gruppen einteilen:

1. Antibiotika und Chemotherapeutika, die
 - a) systemisch oder
 - b) lokal angewandt werden,
2. Entzündungshemmer
 - a) systemische Wirkung durch Hemmung der Prostaglandinbildung,
 - b) lokalwirkende Glukokortikoide,
3. Gewebssauflösende und ätzende Wirkstoffe,
4. Desinfektionslösungen.

Einige klinische Tests solcher Medikamente sollen nun vorgestellt werden.

Antibiotika und Chemotherapeutika

Systemische Anwendung

In einer Studie an der Zahnklinik der Universität Düsseldorf untersuchte H.-J. MENZEL⁷ das Spiramycin, ein Vertreter der Erythromycin-Gruppe, das aus Kulturen von *Streptomyces ambofaciens* gewonnen wird, als Mittelspektrum-Antibiotikum vorwiegend gegen grampositive Erreger wirksam ist, und dessen Gewebs- und Speichelspiegel über dem Blutspiegel liegt. Menzel verabreichte das von der Firma "Chemie Grünenthal" unter dem Herstellernamen Selectomycin^R vertriebene Spiramycin 82 Patienten, die nicht nur ausschließlich unter Parodontalerkrankungen litten, sondern einen Querschnitt jeglicher entzündlicher Mundhöhlenerkrankungen darstellten: ulzeröse Gingivitiden, marginale Parodontitiden, aphtöse Erkrankungen, Speicheldrüseninfektionen, Weichteilabszesse, Dentitio difficilis-Fälle und Osteomyelitiden. Den Patienten wurde im Durchschnitt 1 g Selectomycin^R pro Tag verabreicht. In 13 Fällen ulzerös-nekrotisierender Gingivitiden wurde unter Einwirkung des Antibiotikums ein rascher Rückgang des akuten Stadiums verzeichnet, so daß im subakuten Stadium mit der Lokalbehandlung begonnen werden konnte.

Von 4 Fällen einer akuten marginalen Parodontitis konnte nur in einem Fall allein durch das Antibiotikum eine Besserung erzielt werden. In den 3 anderen Fällen half nur eine herkömmliche PA-Behandlung. Auch bei den anderen entzündlichen Mundhöhlenerkrankungen gibt der Autor einen guten Verlauf an, betont aber immer wieder den unterstützenden Charakter der Spiramycintherapie, die er ohne lokale chirurgische Maßnahmen nicht befürwortet.

Bei 7 Patienten beobachtet Menzel als Nebenwirkung Durchfälle und Übelkeit und in 2 Fällen allergische Reaktionen mit Exanthenen und Juckreiz. Diese allergischen Reaktionen könnten laut Menzel die Frage nach einer Gruppenallergie aufwerfen.

Eine weitere Untersuchung des Spiramycins erfolgte im zahnärztlichen Institut Basel durch E. GALL⁸. Bei dem von Gall untersuchten Spiramycin handelte es sich um Rovamycin^R von der Firma Specia.

In einem Doppelblindversuch an 30 Patienten wurde die Hälfte des Patientenguts mit Rovamycin^R-Tabletten und die andere Hälfte mit Placebos behandelt. Eine herkömmliche chirurgische Parodontalbehandlung erfolgte nicht, und die Probanden behielten ihre Zahnpflegegewohnheiten bei. Die Untersuchung der Patienten erfolgte an den oberen Frontzähnen.

Die anschließenden Untersuchungen ergaben folgende Ergebnisse:

- Sulcus fluid Test - kein statistisch gesicherter Unterschied zwischen Wirkstoff- und Kontrollgruppe;
- Zahnbeweglichkeit - die Senkung ist nur schwach signifikant, also keine sichere Wirkung;
- Plaque-Index - sowohl bei Wirkstoff- als auch bei Placebogruppe keine Veränderung;
- Taschentiefe (!) - signifikante Medikamentenwirkung am ausgeprägtesten approximal;
- P-M-Index (!) - Papillenindex sinkt bei der Wirkstoffgruppe, jedoch nicht der Marginalsaumindex.

Gall kommt zu dem Schluß, daß das in hoher Konzentration aus dem Taschensekret austretende Spiramycin auf Grund bakterizider Eigenschaften eine entzündungshemmende Wirkung hat. Die einmal etablierte Plaque könne zwar nicht durch das Antibiotikum angegriffen, jedoch die Vitalität der Bakterien reduziert werden. Bei 10 % der mit Spiramycin behandelten Patienten wurden gastro-intestinale Störungen festgestellt, eine Feststellung, die sich mit der Arbeit von Menzel deckt. Wie dieser sieht auch Gall das Spiramycin nur als Medikament zur Unterstützung der instrumentellen PA-Behandlung an.

MILLS, THOMPSON und BEAGRIE⁹ untersuchten in einem Doppelblindversuch 1979 die Wirkung von Spiramycin (Rovamycin^R) im Vergleich zur Wirkung von Erythromycin und einem Placebo. Eine erste Studie wurde an 48 Patienten mit leichter Parodontalerkrankung und eine zweite Studie an 54 mit fortgeschrittener parodontaler Schädigung durchgeführt.

Auch bei diesen Untersuchungen wurden die Patienten dazu angehalten, ihre Oralhygiene nicht zu ändern, und eine instrumentelle PA-Behandlung erfolgte erst nach Ende der Untersuchungen. Bezüglich Taschentiefe, Sulcus fluid und Plaquefeuchtgewicht ergab sich bei der ersten Studie sowohl bei Spiramycin als auch bei Erythromycin ein Therapieerfolg im Gegensatz zum Placebo. Beim Gingivalindex nach Silness und Loe und bei der Erhebung der Plaquemenge zeigten die Spiramycinpatienten eine signifikante Besserung gegenüber den Erythromycinprobanden.

Letzteres Untersuchungsergebnis - die Verminderung der Plaquemenge nach Spiramycineinnahme - stellt einen Widerspruch zu den Untersuchungsergebnissen von Gall dar.

Die zweite Studie, die Fälle schwererer Parodontalerkrankungen untersuchte, ergab eine deutlich höhere Wirksamkeit von Spiramycin gegenüber Erythromycin, was nach Meinung der Autoren an der geringeren Größe des Spiramycinmoleküls liegt. Außerdem sehen es die Autoren als ein Resultat ihrer Arbeit an, daß Spiramycin besonders in fortgeschrittenen Fällen die Parodontitisbehandlung vorteilhaft beeinflusst.

TRIADAN, ERNI, RÖTTIG¹⁰ nahmen 1973 in einem ähnlich aufgebauten Doppelblindversuch eine vergleichende Untersuchung des Spiramycins Rovamycine^R und des Präparats Bactrim^R vor, das durch Hemmung zweier aufeinanderfolgender enzymatischer Reaktionen im Folsäureaufbau die bakterielle DNS- und RNS-Synthese blockiert. 140 Insassen der schweizerischen Anstalt für Epileptische bekamen entweder Bactrim^R (73) oder Rovamycine^R (67). Auch hier erfolgte vorher keine instrumentelle PA-Behandlung, die Mundhygienegewohnheiten wurden nicht geändert. Bei beiden Medikamenten ergibt sich nach Messung des P-M-Index eine signifikante Abnahme des Entzündungsgrades, jedoch keine Signifikanz bezüglich der Messung der Sulcus fluid-Rate, was auch bereits durch Gall herausgefunden wurde.

Der Vergleich der beiden Medikamente ergibt, daß die Wirkung von Bactrim^R schneller einsetzt als die von Rovamycine^R, aber auch schneller wieder abklingt. Triadan und Mitarbeiter kommen zu dem Schluß, daß Bactrim^R eine gute Alternative zu Rovamycine^R darstellt, jedoch nur gegen akute parodontale Krankheitsbilder und auch nur kurzfristig zur Unterstützung der instrumentellen Lokalbehandlung eingesetzt werden darf, da keine anhaltende Wirkung erreicht werden kann, und das Medikament keine Kausaltherapie darstellt.

1973 überprüfen PLAGMANN, LANGE und DENKS¹¹, ob antibakterielle Substanzen im Speichel vorhanden sind, die auf Grund ihrer Eigenaktivität Konzentrationsbestimmungen antibiotischer Substanzen in der Mundflüssigkeit verfälschen.

Dabei wurde homogenisiertes Gingivagewebe von 11 antibiotisch nicht behandelten Parodontitispatienten im Agar-Diffusionstest auf antibakterielle Konzentration hin untersucht. Bei 15 Personen wurde Parotisspeichel direkt dem Ausführungsgang der Parotis entnommen. Als Vergleichsgruppe dienten 14 Patienten, die zwei Tage zuvor 4 x 0,5 g Selectomycin^R pro Tag eingenommen hatten. Das Ergebnis der Untersuchungen zeigt, daß die überwiegende Mehrzahl der Untersuchungsproben keine antibakterielle Wirksamkeit aufweist. Für uns ist das von den Autoren gefundene Nebenergebnis wichtiger. Die Untersuchungen erbrachten, daß Spiramycin in hohem Maße durch die Zahnfleischtaschen in die Mundhöhle eintritt. Die Konzentration des Antibiotikums in der Gingiva sei höher als in den Speicheldrüsen Geweben der Parotis und der Glandula submandibularis.

Mit Resistenzbildung der Bakterien gegen systemisch verabreichte Tetrazykline befaßt sich die 1979 durchgeführte Studie von WILLIAMS, OSTERBERG und JØRGENSEN¹². Vier Patienten wurde zwei Wochen lang eine orale Dosis von 1000 mg pro Tag verabreicht, neun andere Patienten bekamen dagegen eine Woche lang 1000 mg pro Tag und dann über einen längeren Zeitraum 250 mg pro Tag. Die Untersuchung der subgingivalen Plaqueabstriche der mit Tetrazyklin hochdosiert behandelten Patienten erbrachte, daß sich die Bakterienflora hauptsächlich aus Streptokokken und Actinomycesarten zusammensetzte. Die neun anderen Patienten wiesen jedoch eine wesentlich größere Variation an Mikroben auf. Sie alle hatten außerdem eine hohe Zahl grampositive Stäbchen, die hauptsächlich für die Entstehung parodontaler Erkrankungen verantwort-

lich sind. Die isolierten Bakterienkulturen wurden danach auf ihre Tetrazyklinresistenz untersucht. Die isolierten Streptokokken sowohl von der ersten als auch von der zweiten Probandengruppe waren fast alle resistent. Unter den Aktinomyzeten war nur der *A. odontolyticus* tetrazyklinresistent. Die gramnegativen Stäbchen, die von der Gruppe mit der schwachen Dosierung isoliert worden waren, wiesen in großer Zahl Resistenz gegen das Tetrazyklin auf. Auf Grund dieser Untersuchungsergebnisse wird von den Autoren die Forderung gestellt, eine Tetrazyklintherapie zur Unterstützung einer Parodontalbehandlung nur für einen kurzen Zeitraum hochdosiert durchzuführen.

HELLDEN, LISTGARTEN und LINDHE¹³ haben 1979 den Therapieerfolg von Tetrazyklinbehandlung und Wurzelglättung miteinander verglichen. Sechs von 12 Probanden wurde Tetrazyklin verabreicht, bei allen 12 wurde jeweils die eine Zahnbogenhälfte gescalt, wobei man auch eine Wurzelglättung vornahm, die andere Zahnbogenhälfte behandelte man nicht instrumentell. Somit ergaben sich 4 Gruppen:

- 1) keine Behandlung,
 - 2) nur scaling und Wurzelglättung,
 - 3) nur Tetrazyklintherapie und
 - 4) scaling/Wurzelglättung und Tetrazyklintherapie.
- Als Bewertungskriterien dienten der Gingival- und Plaqueindex nach Silness und Loe, sowie die Taschentiefennmessung. Hinsichtlich dieser drei Bewertungskriterien wurden die besten Ergebnisse bei der Gruppe der instrumentellen Zahnsteinentfernung gefunden.

Antibiotika und Chemotherapeutika

Lokale Anwendung

1968 stellt sich Ingrid GEHLEN¹⁴ in ihrer Dissertation die Frage, in welcher Zeit Aureomycin^R-Paste die Schranke des verhornten Gingivaepithels durchdringt. Sie macht sich die Tatsache zunutze, daß Aureomycin^R ein Abkömmling des Tetrazyklin ist, das Eigenfluoreszenz besitzt und durch Bestrahlung mit UV- und Blaulicht mikroskopisch sichtbar gemacht werden kann. Dies gibt ihr die Möglichkeit, die Diffusionsverhältnisse des Medikaments am parodontalen Weichgewebe des Menschen zu untersuchen. Bereits 10 Minuten nach der Applikation von Aureomycin^R-Paste auf die Gingiva wurde von ihr eine Fluoreszenz in der keratohyalinen Schicht des Epithels einer Papille gesehen. Je stärker die Papille entzündet ist, desto breiter ist das fluoreszierende Band. Nach einer halben Stunde fluoreszieren das übrige Epithel und die Rethelleisten, nach einer Stunde beginnt das Bindegewebe schwach zu fluoreszieren. Die Fluoreszenzerscheinungen erreichen nach zwei Stunden ihren Höhepunkt und verschwinden nach durchschnittlich 24 Stunden. Die höchste Intensität der Fluoreszenz wird von der Autorin in der keratohyalinen Schicht angegeben, am schwächsten fluoresziert das Bindegewebe. Damit ist erwiesen, daß sich das Medikament in besonders starkem Maße im Epithel anhäuft.

Die lokale Anwendung der Tetrazyklinabkömmlinge Aureomycin^R und Ledermycin^R wurde von A. GOTFRYD und D. GOTFRYD¹⁵ 1962 an der Universität Berlin getestet. Beide Chemotherapeutika hemmen die Proteinsynthese sowohl bei grampositiven als auch bei gramnegativen Bakterien, säurefesten Stäbchen, Spirochäten und Rickettsien.

Ledermycin^R zeichnet sich gegenüber Aureomycin^R und anderen Tetrazyklinen dadurch aus, daß seine Stabilität und Hitzebeständigkeit größer ist. Vor der Applikation in die Zahnfleischtaschen und Interdentalräume wurde jedoch nicht darauf verzichtet, supragingivalen Zahnstein und subgingivale Konkrement zu entfernen und eine Kürettage durchzuführen. Aureomycin^R wurde in 311 Fällen ulzeröser Gingivitis und Ledermycin^R in 37 Fällen angewandt. Ein Versagen der Antibiotika ist nicht beobachtet worden. Ulzerationen und entzündliche Begleiterscheinungen sprachen schlagartig an, die Schmerzen gingen zurück, und die Körpertemperatur normalisierte sich. Das Wirkungsmaximum von Aureomycin^R wurde 5 - 8 Stunden nach Verabreichung festgestellt, die Wirkung ließ ab dann allmählich nach. Nach 48 Stunden wurde eine Normalisierung des Bakteriengehalts der Mundhöhle festgestellt. Papierchromatographische Untersuchungen des Blutserums ergaben, daß die beiden Antibiotika nicht in nachweisbaren Konzentrationen im Blut auftreten. Als Nebenerscheinungen wurden Übelkeit und Erbrechen beobachtet, was die Autoren dem Geschmack der Medikamente und deren Reizwirkung auf die sensiblen Rezeptoren zuschreiben. In 22 Fällen kam es nach Verabreichung der Medikamente zu Stomatitiden der gesamten Mundhöhle. In einem Fall kam es zu einer Superinfektion durch *Candida albicans*. Als Ergebnis ihrer Untersuchungen kommen die Autoren zu dem Schluß, daß eine Indikation für die beiden Antibiotika nur bei wirklich schweren ulzerativen Erkrankungen der Mundhöhle besteht, und daß mit einer Bakterienresistenz gegen Aureomycin^R gerechnet werden muß.

FRALEIGH¹⁶ untersuchte 1956 die lokale Wirkung von Terramycin als Zusatz in einem Zahnfleischverband. In seiner Untersuchung galt es folgende Fragen zu klären:

1. Hat Terramycin im Zahnfleischverband eine unterstützende Heilwirkung nach einer Gingivektomie?
2. Wie schnell erfolgt Epithelisation unter Terramycineinwirkung?
3. Empfindet der Patient unangenehme Nebenwirkungen wie Schmerz oder Foetor?
4. Unterdrückt Terramycin den Foetor auch nach mehreren Tagen?
5. Treten lokale allergische Reaktionen auf?
6. Wenn dies zutrifft, treten dann auch allergische Reaktionen bei späterer systemischer Verabreichung auf, oder treten sie
7. bei späterer lokaler Terramycineinwirkung auf?
Und schließlich
8. falls nach örtlicher Einwirkung keine allergische Reaktion eintritt, kann es beim nächsten Mal dazu führen?

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden 50 Patienten nach einer Gingivektomie sowohl im Ober- als auch im Unterkiefer an einem Quadranten mit einem Zahnfleischverband mit 125 mg Terramycin und an dem anderen Quadranten mit einem Kontrollzahnfleischverband ohne Terramycin versorgt.

49 der 50 Patienten gaben an, daß sie ein subjektiv angenehmeres Gefühl auf der Terramycinseite hätten. Nur einer konnte keinen Unterschied feststellen. Bei 48 erfolgte die Heilung und Epithelisierung unter Terramycinzusatz schneller.

Alle 50 Patienten gaben an, daß sie eine unangenehmere Geruchsbildung unter dem Zahnfleischverband ohne Terramycin wahrnahmen.

Auf der Kontrollseite wurden keine allergischen Reaktionen festgestellt, jedoch bei 12 Patienten auf der Testseite. Diese allergischen Reaktionen manifestierten sich in schwarzer Haarzunge, erythematösen Bläschen an der Zunge, der buccalen Schleimhaut und am weichen Gaumen. Von diesen Patienten bekamen 11 nach Abklingen der allergischen Manifestationen 3 Tage lang alle 4 Stunden 500 mg Terramycin verabreicht. Es zeigten sich keine allergischen Reaktionen. Daraufhin wurden die 4 Patienten ausgesucht, die die stärksten Allergien gezeigt hatten. Bei ihnen wurde nach einer gewissen Zeit Terramycin abermals lokal angewandt. Nur einer zeigte dieselbe Allergiereaktion wie beim erstenmal. Bei 10 Patienten ohne Allergie zeigte auch eine wiederholte lokale Anwendung ebenfalls keine allergische Reaktion.

Als wichtig hebt der Autor hervor, daß sich die Allergien nicht unter dem Terramycinzahnfleischverband manifestierten, sondern an anderen Stellen, die Heilung nicht herauszögerten und rasch abklangen. Die histologischen Untersuchungen ergaben, daß Vakuolisierung der Epithelzellen und interzelluläres Ödem nach der Gingivektomie auf der Kontrollseite länger bestanden als auf der Experimentseite, wo diese Erscheinungen nach 14 Tagen verschwunden waren. Am 18. Tag war die Epithelschicht auf der Experimentseite dicker als auf der Kontrollseite. Eine Reduzierung der Rundzelleninfiltrate im Bindegewebe auf der Experimentseite gegenüber der Kontrollseite wurde erst ab dem 18. Tag beobachtet.

Die positiven Eigenschaften des Terramycins als Adjuvans der Parodontalbehandlung konnten somit bestätigt werden.

1968 untersuchten MITCHELL und BAKER¹⁷ die Wirkung des Antibiotikums Vancomycin Hydrochlorid (Vancocin^R) bei lokaler Anwendung in Fällen nekrotisierender Gingivitiden. Klinische Erfahrungen hatten gezeigt, daß eine Einzeldosis von 3 - 5 mg lokal angewandt große Ansammlungen dentogingivaler Plaque fortschaffte. In Labortests zeigte kein Staphylokokkenstamm Resistenz, und in drei Jahren Gebrauch zeigte sich bei lokaler Anwendung kein Fall von Sensibilisierung, sowie kein Überwiegen von Candida albicans. Wenn auch bei großen intravenösen Verabreichungen als Nebenwirkung eine Beeinträchtigung des Gehörs auftrat, konnten bei örtlichem Gebrauch keine Nebenwirkungen festgestellt werden. In einem Doppelblindversuch mit 36 Patienten wurde das Vancomycin Hydrochlorid von Mitchell und Baker auf seine Wirksamkeit hin untersucht. Von den 36 Patienten bekamen 25 das Antibiotikum und der Rest ein Placebo als Paste in die Zahnfleischtaschen verabreicht. Eine weitere Behandlung erfolgte nicht, und die Patienten bekamen auch keine Instruktionen bezüglich Verhalten und Mundhygiene. Bei 22 Patienten zeigte sich eine deutliche Verbesserung mit Reduktion der Materia alba bereits am folgenden Tag. Ein Nachlassen des Foetor ex ore wurde bei 23 Patienten festgestellt.

Entzündungshemmer

Systemische Wirkung durch Hemmung der Prostaglandinbildung

M.A. MARXER und Ch. STUDER-STÄHELI¹⁸ untersuchten 1978 das Medikament Insadol^R von der Pariser Firma Laroche-Navarron, welches Vorstufen des Vitamin E enthält, das die Prostaglandinbildung und somit die

Entzündung hemmt, die zur parodontalen Bindegewebs- und Knochendestruktion führt. Die Studie wurde als Doppelblindversuch aufgebaut.

54 Parodontitispatienten wurden in eine Gruppe leichter Parodontalerkrankungen mit Taschentiefen bis zu 4 mm und in eine Gruppe schwerer Formen von ca. 5 und mehr Millimetern unterteilt.

Im ersten Monat wurden den Patienten täglich 2 x 2 Kapseln zu 100 mg Insadol^R bzw. Placebo verabreicht.

In den folgenden zwei Monaten bekamen die Probanden täglich 2 x 1 Kapsel Insadol^R bzw. Placebo.

Der medikamentösen Behandlung ging keine mechanische Lokalbehandlung voraus. Die Wirksamkeit des Insadols^R wurde durch folgende Meßmethoden und Indizes überprüft: Sulcus-Fluid-Test, Bestimmung des Entzündungsgrades der Gingiva (P-Index), Plaqueindex, Taschentiefe, Zahnbeweglichkeit und Knochenschwund im Röntgenbild. Die anschließende Aufschlüsselung ergab, daß 13 Patienten der Gruppe leichter Parodontalerkrankungen und 12 derjenigen schwererer Fälle das Medikament bekommen hatten. Lediglich die Sucus-Fluid-Werte zeigten bei den leichten und schweren Fällen gemeinsam eine signifikante, wenn auch geringe Verminderung bei den Medikament-Probanden gegenüber der Placebogruppe. Alle anderen Indizes zeigten bei der Medikamentengruppe keine Verbesserung. Auch bei dieser Arbeit wird von den Autoren als Abschlußurteil die Meinung vertreten, daß Insadol^R therapeutisch ohne jeden Nutzen ist, und eine mechanische Lokalbehandlung durch seine Anwendung nicht verbessert werden kann.

NYMAN, SCHROEDER und LINDHE¹⁹ testeten 1979 die entzündungs- und knochenresorptionshemmende Wirkung des aspirinähnlichen Indomethacin an 3 Hunden. Voraussetzung ihrer Untersuchungen war die Überlegung, daß die von Neutrophilen und Makrophagen während der Phagozytose synthetisierten Prostaglandine, die man bei purulenten PA-Erkrankungen im Zahnfleischexsudat findet, die Ödembildung potenzieren und auch Knochenresorption bewirken.

Indomethacin hemmt die Biosynthese von Prostaglandinen, was eine Hemmung der Reduktion der leukozytären Infiltration, somit der Ödembildung und Knochenresorption zur Folge hat.

Drei Hunde mit einer durch eine Vorbehandlung erreichten klinisch gesunden Gingiva wurden folgendem Test unterzogen: an 4 Zähnen der linken Seite wurden subgingivale Zahnseideligaturen befestigt. Während der 28 Tage dauernden Tragezeit wurde dort keine Zahnpflege vorgenommen, während auf der rechten Seite die Zahnpflege fortgesetzt wurde.

Untersuchungen wurden am 7., 14., 21. und 28. Tage vorgenommen. Nach einer Pause von 40 Tagen fand der gleiche 28 Tage dauernde Vorgang auf der rechten Seite statt, wobei den Hunden zweimal täglich Indomethacin ins Futter gegeben wurde. Die ersten 28 Tage stellten somit die Kontrollperiode und die zweiten 28 Tage die Testperiode dar.

Die klinischen und histologischen Untersuchungen erbrachten folgendes:

Ödembildung auf der Testseite geringer als auf der Kontrollseite, jedoch nur bis zur dritten Woche.

In der vierten Woche zeigte sich kein Unterschied mehr. Beim Sulcusfluid war kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Seiten meßbar. Der mittels Röntgenbilder überprüfte Knochenrückgang war auf beiden Seiten gleich. In der ersten Woche war die Taschentiefe zwar auf der Kontrollseite größer, jedoch war sie in der vierten Woche kleiner als auf der Testseite. Auf beiden Seiten reichte die subgingivale Plaque bis zum Taschenboden. Während die Bindegewebsentzündung in der ersten Woche auf der Kontrollseite noch größer war als auf der Testseite, so bestand in der 3. und 4. Woche kein Unterschied mehr.

Auch die Distanz vom Knochenrand zur Schmelzzementgrenze war auf beiden Seiten gleich.

Anhand der geringeren Knochendichte auf der Kontrollseite konnte jedoch festgestellt werden, daß hier die osteoklastische Tätigkeit größer als auf der Testseite war. Der Limbus alveolaris war hier bereits angegriffen. Das Bindegewebe der Kontrollseite wies in höherem Maße Entzündungszellen und teilweise zerstörtes Saumepithel auf. Die Taschen waren weit, und das Taschenepithel war ulzeriert. Wenn auch gewisse Unterschiede in den Ergebnissen auftraten, was an den nicht zu vereinheitlichenden Ligaturtiefen lag, so konnten Nyman, Schroeder und Lindhe doch feststellen, daß auf Grund der Indomethacinmedikation die anfänglichen Entzündungsreaktionen und die osteoklastische Knochenresorption vermindert werden. Keine signifikante Wirkung hatte das Indomethacin auf die Plaqueakkumulation.

Entzündungshemmer

Lokalwirkende Glukokortikoide

Die Lokalthherapie marginaler Parodontopathien mit dem Glukokortikoid-Salbenpräparat Dontisolon^R ist von EIFINGER²⁰ untersucht worden. Eifinger hebt in seiner Arbeit deutlich hervor, daß die alleinige Anwendung des Dontisolons^R ohne gleichzeitige instrumentelle PA-Behandlung nur zu einer kurzfristigen Besserung führt. Bei den Versuchspersonen, bei denen auf eine instrumentelle Vorbehandlung verzichtet wurde, ergaben sich nach anfänglicher Besserung des parodontalen Entzündungszustands Rezidive nach 8 - 14 Tagen. Dontisolon^R ist ein Kombinationspräparat mit folgendem Inhalt und Wirkungsspektrum:

Prednisolon steht therapeutisch im Vordergrund, es dämpft Entzündung sowie Hyperämie, und setzt die Blutungsneigung herab.

Das Gewebe strafft sich auf Grund des Abklingens der ödematösen Aufquellung, wodurch Taschensekretion und Konkrementbildung eingeschränkt werden, was zur Abnahme des Lockerungsgrades der Zähne führt.

Das Pankreasferment Trypsin und die Protease Chymotrypsin bauen auf Grund ihrer proteolytischen Wirkung nekrotische Gewebsteile ab und haben außerdem eine antiphlogistische Wirkung. Der Nachteil des Prednisolons ist die Herabsetzung der körpereigenen Infektabwehr, daher sind dem Salbenpräparat das Antibiotikum Neomycin, vorwiegend wirksam gegen gramnegative Bakterien, und das Chemotherapeutikum Surfen^R, Erweiterung des Wirkungsspektrums gegen grampositive Bakterien, beigemischt.

Als positive Resultate der Medikamenteinwirkung gibt Eifinger auf Grund seiner Untersuchungen an, daß im Durchschnitt nach der ersten Sitzung eine Schmerzlinde rung zu erwarten ist. In den folgenden Behandlungen läßt die Blutungsneigung nach, die Papillen schwellen ab, und der Foetor ex ore schwindet. Tiefe Zahnfleisch taschen können ohne chirurgische Behandlung jedoch nicht in den Griff bekommen werden. Auch die reine Parodontose und Hydantoin-Hyperplasien bleiben durch Dontisolon unbeeinflußt.

Die histologischen Untersuchungen Eifingers bestätigen die klinischen Befunde. Nach viermaliger Behandlung zeigt sich eine Reduktion des Rundzelleninfiltrats und ein normaler Aufbau des Epithels. Nach Abbrechen der medikamentösen Therapie ohne instrumentelle Behandlung zeigt der histologische Befund wieder eine leukozytäre Infiltration im Bindegewebe, die über die Basalschicht des Epithels hinausgedrungen ist.

Zu ähnlichen Ergebnissen kam Dieter BAUMANN²¹ in seiner Dissertation 1963 an der zahnmedizinischen Fakultät der Universität Bonn. Er stellte eine vergleichende Untersuchung der Präparate Dontisolon^R und Alve-o-med^R von Blendax an, wobei in der Wirksamkeit beider Medikamente kein Unterschied von ihm bemerkt wurde. Er gibt an, daß in 83 % der Fälle schon nach den ersten zwei Sitzungen ein Erfolg sichtbar wurde, der in einer Reduktion der Blutungsneigung und der entzündlichen Rötung der Gingiva bestand, sowie in der Minderung der Schmerzhaftigkeit und der vollständigen Beseitigung des Foetor ex ore. Ein Abschwellen der entzündeten Papillen konnte nicht in jedem Fall bestätigt werden.

Baumann gibt an, daß schwere chronische Fälle mit tiefen Zahnfleischtaschen besser auf die Alve-o-med^R und Dontisolon^R-Therapie ansprachen als Fälle einer leichten Parodontitis marginalis superficialis, da bei letzteren kaum Taschen und weite Interdentalräume für ein ausreichendes Depot der Salben vorhanden sind, so daß diese vom Speichel rasch fortgespült werden. Kein voller Therapieerfolg wurde fast ausschließlich bei weiblichen Patienten festgestellt, wofür der Autor endogene Faktoren verantwortlich macht. Auch Baumann betont ausdrücklich, daß der Therapieerfolg rascher eingetreten ist, wenn die Salbenverabreichung mit einer herkömmlichen instrumentellen Parodontalbehandlung kombiniert wurde. In Fällen hartnäckiger persistierender Inflammationen waren meistens noch subgingivale Konkremente vorhanden, nach deren Entfernung sich die Heilung dann begünstigte.

Gewebsauflösende und ätzende Wirkstoffe

GLICKMAN und PATUR²² untersuchten die Behauptung, daß Antiformin die Fähigkeit habe, Mikroorganismen und nekrotisches Gewebe aufzulösen und außerdem blutstillend und epithelspezifisch sei. Angrenzendes Bindegewebe solle nicht angegriffen werden, wenn Antiformin nur zwei Minuten appliziert würde. Das Antiformin, eine alkalische Natriumhypochloritlösung bestehend aus 7,5% NaOH und 5,2 % Chlor, wurde 2 bzw. 4 Minuten lang an 27 Zahnfleischtaschen von 9 Patienten bis zum Taschenboden appliziert; anschließend wurde es mit 10 prozentiger Zitronensäure neutralisiert. Die histologische Untersuchung der anschließend gingivektomierten Papillen, die 2 Minuten lang mit Antiformin behandelt wurden, zeigte, daß die Taschenwand vom Epithel denudiert war, daneben befand sich eine Zone nekrotischen Bindegewebes mit zerstörten Bindegewebsfasern. Statt der bekannten Faserstruktur war lediglich eine homogene, tief eingefärbte Masse zu erkennen. Die Kerne waren pyknotisch und hyperchrom. Die histologischen Befunde nach 4 minütiger Applikation zeigten ein ähnliches, jedoch verstärktes Bild. Damit ist von Glickman und Patur widerlegt worden, daß Antiformin epithelspezifisch wirkt. Es ist unspezifisch und nekrotisierend und greift sowohl Epithel als auch Bindegewebe an. Der Grad der Bindegewebsdegeneration ist lediglich abhängig von der Eindringtiefe des Antiformins.

1949 ging Frank E. BEUBE²³ der Frage nach, ob eine Natriumsulfidlösung einen Nutzen bei der Behandlung von Zahnfleischtaschen habe. Verschiedene Autoren hatten behauptet, daß eine Natriumsulfidlösung das Epithel auflösen und somit ein Re-

attachment des Bindegewebes am Wurzelzement ermöglichen würden, wobei Sulfhydril- und Sulfidionen für die spezifische auflösende Wirkung des Epithels verantwortlich gemacht wurden. Beube nahm seine Studie an 21 Patienten vor, die nur noch ihre unteren 6 Frontzähne ohne Antagonisten hatten. Dadurch sollten okklusale Streßfaktoren ausgeschaltet werden. Bei jedem Patienten wurde die Hälfte der Zähne und Parodontien auf herkömmliche Weise gescalt und kürettiert; die andere Hälfte wurde mit der Lösung behandelt und danach das losgelöste Taschenepithel mit der Kürette entfernt. Das Ergebnis der beiden gegenübergestellten Behandlungsformen wurde über einen Zeitraum von 63 Tagen beobachtet. Dabei kam Beube zu dem Ergebnis, daß die Lösung mehr Schaden anrichtet als Nutzen. Es zeigte sich, daß die Abnahme der Taschentiefe bei normaler Kürettage zweimal so groß war wie bei der Anwendung der Lösung. Die histologischen Untersuchungen zeigten, daß nur oberflächliche Epithelschichten und nicht die Epithelzapfen und Basalzellen angelöst wurden. Eine Gegenüberstellung der Wirkung von einer Natriumsulfid- und einer Natronlaugenlösung zeigte, daß die Epithelloslösung allein durch den Ätzvorgang auf Grund der hohen Alkalinität des Natriumsulfids entstand. Derselbe Vorgang konnte mit Natronlauge erzielt werden. Die Behauptung anderer Autoren, daß die Sulfhydril- und Sulfidionen eine spezifische epithelloslösende Wirkung hätten, konnte widerlegt werden. Ein direktes Angreifen von Sulfidionen an das Epithel findet nur bei verhorntem Epithel statt. Das Epithel der pathologischen Zahnfleischtasche ist jedoch unverhornt.

Desinfektionslösungen

MARTIN, BISHOP, GUENTHERMAN und DORMAN²⁴ untersuchten 1968 die Wirkung einer einprozentigen Wasserstoffperoxidlösung auf die Gingiva von Hunden. Die H_2O_2 -Lösung wurde den Tieren ständig auf die Gingiva geträufelt. Nach einer 6 stündigen Beträufelung hatten die Epithelzellen Vakuolen gebildet, und der Extrazellularraum hatte sich vergrößert. Das Bindegewebe wurde ödematös und enthielt viele Neutrophile und einige Eosinophile. Die Kapillaren waren voll mit Erythrozyten, wofür die Autoren Plasmaverlust aus den Gefäßen verantwortlich machten. Nach 12 Stunden Beträufelung hatte sich der Extrazellularraum weiter vergrößert. Die Dicke der Basalzellage nahm zu, Mitosen wurden jedoch nicht beobachtet. Zwischen den Epithelzapfen bildeten sich Blasen. Das Verhältnis von Neutrophilen zu Eosinophilen war nahezu 1 : 1, und ein paar Plasmazellen wurden beobachtet. Nach 24 Stunden war die Epithelschicht durchbrochen worden, wobei sich große pemphigoide Blasen gebildet hatten. Das Ödem im Bindegewebe war stärker geworden. Die Blutgefäße waren voll mit Leukozyten, jedoch waren weniger Leukozyten im Bindegewebe als beim 12 Stunden Test. Plasmazellen wurden nur gelegentlich gesehen. Die Biopsie nach 48 stündiger Beträufelung zeigte totale Zerstörung und Ablösung der keratohyalinen Schicht des Epithels, das eine noch stärkere Vakuolisierung und Ödembildung aufwies. Die Autoren sahen den Grund für die aufgetretenen Veränderungen in einer vasculären Irritation, die das H_2O_2 entweder direkt am Kapillarendothel bewirkt hat, oder in einer durch das H_2O_2 verursachten

Mastzellendegranulation mit Freisetzung von Hista-
min. Nach Auffassung der Autoren sprechen die oben-
angegebenen Befunde für eine Erhöhung der Gefäßper-
meabilität; der akuten Entzündungsreaktion folge
jedoch kein chronisches Stadium, da die Anzahl der
chronischen Entzündungszellen, Plasmazellen und
Lymphozyten, beim 48 Stunden Test nicht signifikant
höher war als beim 12 Stunden Test.

Auch Balint ORBAN²⁵ untersuchte die Einwirkung
von O_2 auf die chronisch entzündete Gingiva.
Jedoch testete er nicht die H_2O_2 -Wirkung, sondern
das 30 prozentige Superoxol von Merck. Superoxol
hat einen pH-Wert zwischen 1,5 und 2,5. Die Azidi-
tät ist notwendig, um die Lösung zu stabilisieren.
Daher war es nötig, das Superoxol mit einer 5
prozentigen Lösung Natriumbikarbonat zu neutrali-
sieren. Danach wurde es mit Watte 10 bis 20 Sekun-
den lang in die Zahnfleischtaschen von Probanden
appliziert. Der Vorgang wurde mehrmals in einer
Sitzung wiederholt.

Die histologische Untersuchung der Zahnfleisch-
papillen wies Luftblasen auf, die tief ins subepi-
theliale Bindegewebe vorgedrungen waren. Weder in
Zellen noch in Blutgefäßen, sondern nur interzellu-
lär befanden sich die Luftblasen, die von außen
nach innen in ihrer Größe abnahmen. Die Absorption
des O_2 erfolgt nach Meinung Orbans entweder durch
die Gewebsflüssigkeit oder Hämoglobin, der Haupt-
anteil werde jedoch durch den Lymphstrom abtrans-
portiert. Im Gegensatz zu den Untersuchungen von
Martin u.a. beobachtet der Autor eine Steigerung
der Mitoserate und ein völliges Verschwinden von
Plasmazellen. Die Vorgänge in der Gingiva durch
die Einwirkung von Sauerstoff erklärt Orban wie
folgt:

Es entsteht eine lokale Sauerstoffanreicherung, einmal durch den von außen zugeführten Sauerstoff und zweitens auf Grund der dadurch erhöhten Blutzirkulation.

Die Azidität im Entzündungsgebiet wird zurückgedrängt, wodurch Lymphozyten und Plasmazellen degenerieren. Eosinophile erscheinen als Zeichen einer allergischen Reaktion. Auf Grund des erhöhten Sauerstoffgehalts kommt es zu einer Steigerung der Mitoserate und zu einer Fibroblastenvermehrung, wodurch sich das Bindegewebe strafft. Den Abschluß der Untersuchung bildet ein Vergleich zwischen der Sauerstoffbehandlung und dem ausschließlichen scaling. Hierbei kommt Orban zu dem Ergebnis, daß nach dem ausschließlichen scaling immer noch viele Plasmazellen vorhanden und die Mitosen nicht so stark ausgebildet sind.

Eine 1938 durchgeführte vergleichende Untersuchung von Wasserstoffperoxid und Natriumperborat als Mundhöhlendesinfiziens von MILLER, SORRIN, GREENHUT und PELZER²⁶ erbrachte, daß 6,8% der 88 Probanden, die H_2O_2 benutzten, und 21,1 % der 93 Probanden mit Natriumperborat eine schwarze Haarzunge aufwiesen. Bei beiden Testgruppen wurde eine Veränderung der Gingiva zu einem dunkleren Rot festgestellt. Ähnliche Untersuchungen an Ratten ergaben jedoch keine pathologischen Veränderungen an Zunge und Gingiva. Die dargestellten pathologischen Veränderungen am Menschen ließen die Autoren zu dem Schluß kommen, daß der Gebrauch von Natriumperborat und H_2O_2 als Mundhöhlendesinfiziens nur unter Überwachung mit exakten Angaben an den Patienten hinsichtlich Konzentration,

Häufigkeit und Art der Benutzung erfolgen darf. Systemische Nebenwirkungen bei Benutzung von Natriumperborat auf Grund von Borintoxikation werden von den Autoren nicht ausgeschlossen.

GLICKMAN und BIBBY²⁷ untersuchten 1944 ebenfalls die Wirkung von Natriumperborat auf die Mundschleimhaut im Tierversuch. Hunden mit gesunder Gingiva wurde Natriumperborat pur, Natriumperborat mit Geschmackskorrigens und ein durch Calciummonophosphat neutralisiertes Natriumperborat - "Neutrox" - verabreicht. Alle Tiere zeigten marginale Zahnfleischentzündungen mit Rötungen, Ulzerationen, Pseudomembranen, Erythemen und Ödemen. Auf Grund dieser Ergebnisse sehen die Autoren keinen therapeutischen Nutzen in der Wirkung von Natriumperborat.

Die "Spezial-Parodontose-Salbe"

Eine von Dr. Theodor SACHER²⁸ entwickelte Paste soll nun angeblich das langgesuchte medikamentöse Therapeutikum sein, das die herkömmlichen instrumentellen chirurgischen Behandlungen von Parodontopathien unnötig werden läßt. Sacher nennt diese Paste, die von der Firma "Adolf Haupt & Co., Dentalmedizin" in Ampullen für Carpulespritzen hergestellt wird,

"Spezial-Parodontose-Salbe"

und die von ihm mit dieser Salbe durchgeführte Parodontopathientherapie "Regenerationsverfahren". Der Wirkstoff dieses Präparats von Dr. Sacher, dessen spezifische Salbengrundlage das Verbleiben des Medikaments auf feuchter Schleimhaut über längere Zeit gewährleistet, ist das Procain, dem Sacher eine hyperämisierende und stoffwechselaktivierende Wirkung zuschreibt.

Zusammensetzung nach Herstellerangabe:

100 g Salbe enthalten:

Haematoporphyrinhydrochlorid 0,008 g,

Procainhydrochlorid DAB 7 10,0 g

Ferner soll bei Auflösung der Substanz Paraaminobenzoessäure freiwerden, die bakteriostatisch wirkt. Was die Wirkungsweise des Procains betrifft, stützt sich Sacher auf die Untersuchungen von E. Berghoff und anderen.

BERGHOFF²⁹ verabreichte Patienten mit entzündlichen Parodontopathien oral K.H.3 Geriatricum-Schwarzhaupt Kapseln, die die Wirkstoffe Procain und Hämatoporphyrin enthalten. Während das Procain zum Abklingen der entzündlichen Erscheinungen beitragen soll, soll

das Hämatoporphyrin katalysatorisch den Procain-effekt verstärken.

Die Untersuchung erfolgte an 232 Patienten, 47 davon bekamen Placebos. Die Patienten sollten ihre Zahnpflegewohnheiten beibehalten und täglich zum Frühstück eine Kapsel nehmen. Eine instrumentelle Lokalbehandlung erfolgte nicht. Während bei den Placebopatienten keine Besserung eintrat, zeigte sich angeblich bei fast allen anderen Patienten, die die K.H.3 Kapseln eingenommen hatten, eine Besserung, die sich als Abnahme der Taschentiefen und Ödemreduktion darstellte. Die Patienten waren in 4 Gruppen eingeteilt, von leichten Parodontitiden über mittelschwere Fälle bis zu schweren Ulzerationen, und nur bei der 4. Gruppe - also Ulzeration oder Erosion - gab Berghoff 9 Mißerfolge an.

In einem Artikel in ZWR 1 und 2/73 beschreibt Sacher die Wirkungsweise seiner Salbe und den Ablauf des Heilungsvorgangs. Dieser beginnt nach Angaben des Autors mit der Phase der Umstimmung, wofür 3-5 Stützungen notwendig sind. Diese Phase zeichnet sich durch verstärkte Blutung der Papillen aus. In der zweiten Phase finden Übergang und Konsolidierung statt. Die gestauten Kapillaren sollen sich jetzt entstauen, eine kräftigere Durchblutung im Endstromgebiet soll wieder stattfinden. Die Blutungsneigung des Gingivalsaums vermindert sich. In der dritten Phase sind die Schmerzen verschwunden. Die klaffenden oralen und vestibulären Papillen sollen sich wieder vereinigen und am neuen Limbus alveolaris fest am Zahnhals anliegen.

Der Ansatz der Gingiva am Zahnhals stellt nun nach Angabe Sachers den physiologisch günstigsten Punkt dar. Zitat wörtlich:

" Er unterscheidet sich durch seine geringfügige Retraktion wesentlich vom Resultat mancher chirurgischer Methoden."

Für die medikamentöse Parodontaltherapie mittels der von ihm entwickelten Salbe gibt Sacher nun folgende Hinweise, die der Gebrauchsanweisung einer Salbepackung entnommen werden können:

Supragingivaler Zahnstein und subgingivale Konkremente müssen zuvor beseitigt werden.

Eine Ausschaltung bzw. Trockenlegung sezernierender Knochentaschen muß vorgenommen werden.

Die Applikation sollte im Rhythmus - zwischen 10-12 mal - ohne Unterbrechung - montags und donnerstags oder dienstags und freitags erfolgen. Falls die Behandlung unterbrochen wird, muß wieder von vorne begonnen werden.

Öfter als dreimal pro Woche darf nicht behandelt werden.

1 Ampulle stellt die Maximaldosis pro Sitzung dar. Vor Applikation sollte die Ampulle mit der Paste im Wasserbad auf 38°-40°C erwärmt werden.

Mit einer dünnen Pastennadel sollte das Medikament dergestalt in die Zahnfleischtasche eingebracht werden, daß ein geringer Überschuß am marginalen Rand austritt.

Die Paste sollte zirkulär appliziert werden.

Die Paste sollte jeweils nur in die Parodontien eines Quadranten pro Sitzung eingebracht werden. Danach soll der Patient 5 Minuten lang den Mund offenlassen, damit die Paste nicht sofort vom Speichel weggespült wird.

Nach der Sitzung muß der Patient 3 Stunden lang auf Essen, Trinken, Rauchen und coffeinhaltige Getränke verzichten.

Eine intensive Mundhygiene des Patienten ist erforderlich

Um den Erfolg zu sichern, ist eine Wiederherstellung der Wirkungslinie und der Kontaktpunkte erforderlich.

Nach 12-15 Sitzungen ist nach Aussage Sachers der Therapieerfolg des Regenerationsverfahrens abgeschlossen, wobei die Schmerzlosigkeit der Behandlung von ihm noch einmal unterstrichen wird.

Als Kontraindikation für das Regenerationsverfahren gibt der Autor die Kontraindikationen für die Therapie der Parodontopathien schlechthin an. Lediglich die Procainüberempfindlichkeit ist hinzugekommen. Hervorgehoben werden sollte noch, daß Sacher durchaus auf die Möglichkeit hinweist, diese Form der Parodontalbehandlung in die Hände der Fachhelferin zu legen.

Und wenn auch in der Schlußbetrachtung seiner Veröffentlichung in der ZWR die Rede ist vom

"Stopp des Knochenschwundes, sowohl bei entzündlichen wie auch bei rein dystrophischen Formen über Jahre hinaus, selbst bei ungünstigen statischen Belastungsverhältnissen"

, so schreibt er in seinem "Hinweis zur erfolgreichen medikamentösen Parodontose-Spezialbehandlung nach dem Regenerationsverfahren", den er an Interessenten verschickt:

"Die Behandlung kann - bei Bedarf - nach drei Monaten jederzeit wiederholt werden."

"Spezial-Parodontose-Salbe"

Klinische Studie von 1971

1971 untersuchte Djalal KHOSRAWI³⁰ in Mainz die Wirksamkeit der Spezial-Parodontose-Salbe an 18 Patienten mit verschiedenen schweren Parodontopathien. Jeweils zwei Parodontien der Patienten wurden entweder mittels einer Kürettage in 2 Sitzungen oder mit der Spezial-Parodontose-Salbe in 10 Sitzungen therapiert.

Beiden Behandlungsformen - sowohl der instrumentellen als auch der medikamentösen - gingen folgende Vorbehandlungen voraus:

- Beseitigung lokaler Reizmomente,
- Funktionsausgleich,
- Aufklärung der Patienten über Mundhygiene

und eine gründliche Zahnstein- und Konkremententfernung nicht nur mit dem Cavitron allein, sondern auch mit ASH-Handinstrumenten.

Als Ergebnis seiner Untersuchungen beobachtete Khosrawi eine durchschnittlich starke Reduzierung der Taschentiefe bei der Kürettage gegenüber der medikamentösen Behandlung, bei den statistischen Auswertungen konnte er jedoch keine Signifikanz bezüglich Taschentiefenreduzierung und Entzündungsgradminderung zwischen beiden Methoden feststellen.

Khosrawi mußte sogar zugegen, daß die meisten Patienten die Behandlung mit der Salbe angenehmer fanden als die Kürettage.

Eigene Untersuchungen · Vorwort

Djalal Khosrawis Untersuchung der Spezial-Prodontose-Salbe von Dr. Sacher hatte keine signifikanten Ergebnisse gebracht. Er hat weder beweisen können, daß die Salbe einen therapeutischen Nutzen hat, noch konnte festgestellt werden, ob die Salbe dem Prodontalgewebe schade.

Nicht zuletzt lag dies an der Methodik des Versuchs. Khosrawi schreibt, daß die beiden Patientengruppen vor der eigentlichen Therapie, also Kürettage oder Regenerationsverfahren, als Vorbehandlung eine gewissenhafte Entfernung des supramarginalen Zahnsteins mit dem Cavitron und der submarginalen Konkreme mit ASH-Instrumenten vorgenommen wurde. Auf Grund meiner zweijährigen Erfahrung aus der zahnärztlichen Praxis möchte ich behaupten, daß selbst beim schonensten Scaling immer Granulationsgewebe aus der Zahnfleischtasche mitentfernt wird. Leichte Parodontitiden können also durchaus mit einer einfachen Zahnsteinentfernung therapiert werden. Und genau dies wird in den Lehrbüchern über die Behandlung von Parodontopathien (und selbstverständlich erst recht von den Krankenkassen) gefordert.

Zuerst hat die Vorbehandlung zu erfolgen, sowie die Aufklärung über die richtige Mundhygiene. Nach einer Kontrollperiode soll der Patient erneut einer genauen Überprüfung unterzogen werden:

eine Überprüfung, ob 1. noch die Notwendigkeit für eine Parodontalbehandlung besteht, und 2. ob die Parodontalbehandlungswürdigkeit besteht, also inwieweit der Patient zur Mitarbeit und Mundhygiene bereit ist, so daß eine Parodontalbehandlung auch sinnvoll und erfolgversprechend ist.

Erst dann sollte ein Parodontalstatus erhoben und ein Antrag an die Krankenkasse gestellt werden. Es wäre bei der Untersuchung Khosrawis also sinnvoll gewesen, den Versuch so aufzubauen, daß der medikamentösen Behandlung lediglich die supramarginale Zahnsteinentfernung mittels Cavitron als Vorbehandlung vorausgegangen wäre. Denn nur auf diese Weise hätte das Regenerationsverfahren unter Beweis stellen können, daß es tatsächlich eine selbständige Form der Parodontopathientherapie darstelle, so wie Dr. Sacher es auch in seinen Veröffentlichungen behauptet, und nicht nur ein weiteres Medikament zur Unterstützung der herkömmlichen mechanischen Parodontalbehandlung ist. Desweiteren hätte Khosrawi noch eine dritte Patientengruppe als Kontrollgruppe hinzunehmen müssen, bei der man lediglich eine sorgfältige Zahnstein- und Konkremententfernung vorgenommen hätte.

Eine erneute Untersuchung des Parodontaltherapeutikums von Dr. Sacher ist daher angebracht und notwendig.

Dieser Untersuchung geht die Überlegung voraus, daß die Salbe in einer nicht definierten und nicht exakt dosierten Menge in das Parodontalgewebe eingebracht wird, wo sie wiederum ihre Wirkung über einen Zeitraum entfaltet, der nicht genau bestimmt werden kann. Bei dieser sehr ungenauen Applikationsform und Dosierung können über einen kurzen oder längeren Zeitraum im Gewebe zelluläre Veränderungen stattfinden, über die klinische Untersuchungen keine oder nur ungenügend Auskunft geben. Auch Biopsien und anschließende histologische Untersuchungen, die zu gewissen Zeitpunkten nach Einwirkung des Therapeutikums vorgenommen werden, können nur Auskünfte über Momentsituationen im Gewebe geben. So können zum Beispiel zu frühe histologische Untersuchungen zu Fehlinterpretationen

tationen führen bei einem Medikament, das erst nach längerer Verweildauer seine Wirkung zeigt, sei es nun im positiven oder negativen Sinne.

Eine gute Möglichkeit, die Wirkung von Medikamenten und Materialien im Gewebe über einen gewissen Zeitraum zu beobachten, bietet die Zellkultur.

In der Universitätszahnklinik Mainz sind von D. HEIDEMANN u.a.³¹ einige Untersuchungen zahnärztlicher Materialien mittels Zellkulturen durchgeführt und veröffentlicht worden. Je nach Aufgabenstellung finden zwei Zellkulturtypen Anwendung:

primäre Zellen, die nach einer Exzision aus dem entnommenen menschlichen Gewebe frisch angezüchtet und kultiviert werden, und die Dauerzelllinien, die durch ständige Subkultivierung gewonnen werden.

In beiden Fällen besteht wiederum die Möglichkeit, mit Kulturen von Epithelzellen

oder Fibroblasten zu arbeiten.

Sowohl die Primär- als auch die Dauerzellkulturen weisen Vor- und Nachteile auf. Der unbestreitbare Vorteil der Primärkultur liegt darin, daß die Zellen noch die Charakteristika der entnommenen Gewebsprobe aufweisen; das Zellbild ist heterogen und spiegelt somit den Zustand und die verschiedenen Altersstadien der Zellen wider, so wie Zustand und Alter der Zellen auch im Herkunftsgewebe vorherrschten.

Permanente Zellstämme dagegen sind genetisch verändert, sie bieten ein homogenes Zellbild, und nur Mitose und Degeneration heben sich von diesem Bild ab. Wenn es also darum geht, möglichst die Verhältnisse zu schaffen, die dem Gewebe in vivo weitestgehend nahekommen, so ist der primären Zellkultur der Vorzug zu geben. Die Möglichkeit jedoch aus Zellkulturen Tochterzellkulturen anzuzüchten, also

sogenannte Passagen vorzunehmen, ist bei Primärzellen im allergünstigsten Falle nur 15-20 mal gegeben. Dagegen können Dauerzellkulturen 50-100 Passagen bei konstanter Genetik mitmachen. Langanhaltende Untersuchungen von Medikamenten und Materialien sind demzufolge günstiger mit Dauerzellkulturen durchzuführen.

Auf zwei Medikamentuntersuchungen mittels Primärzellkulturen durch Heidemann sei kurz verwiesen. Der eine Versuch beschäftigt sich mit der Wirkung der Mundhöhlendesinfiziensien Chlorhexamed und Dequonal auf primäre Gingivaepithelzellen. Die beiden Desinfiziensien wurden in verschiedenen Verdünnungen dem Medium der Zellkulturen zugegeben. Es zeigten sich zytopathologische Veränderungen an den Epithelzellen, die sich in Kernschädigung, Degeneration, Granulation und Potozytose äußerten, sowie Loslösung der Zellen vom Boden der Petrischale und Zelltod aller Zellen als Ausdruck der Schädigung des Gesamtzellrasens. Bei Chlorhexamed lag die Schädigungsschwelle bei 25 µg/ml zwischen 24 und 48 Stunden. Bei geringeren Konzentrationen waren die Zellschäden nach Auswaschen des Desinfiziens aus dem Medium reversibel. Dequonal erwies sich als aggressiver. Schäden traten bereits bei 5 µg/ml innerhalb 48 Stunden auf. Durch Auswaschen konnte keine Reversibilität erreicht werden. Nach 72 Stunden löste sich der Epithelzellrasen nach vorausgegangener Karyolyse und Wachstumsstop vom Boden der Petrischale ab. Auf Grund dieser Beobachtungen wurde von Heidemann der Schluß gezogen, daß die beiden Desinfiziensien nicht bei großflächigen Wunden der Mundhöhle Anwendung finden dürfen. Offene Mundvorhofplastiken und großflächige Gingivektomien würden somit eine Kontraindikation darstellen.

Die zweite Untersuchung, die erwähnt werden sollte, beschäftigte sich mit den kortikoidhaltigen Salben Socketol und Terracortril. In diesem Fall waren die Versuchszellen primäre Gingivafibroblasten. Die Gewebeerträglichkeit wurde auf Grund der Hemmhofbildung beurteilt. Bei beiden Medikamenten wurde eine gute Verträglichkeit festgestellt.

Bei Socketol wurden je nach Konzentration verschiedenen große Hemmhöfe und Übergangszonen gefunden; die Fibroblasten der Hemmzone waren sedimentiert und abgekugelt, also geschädigt. Die Zellen der Übergangszone beschrieb Heidemann als gedrungen. Nach längerer Versuchsdauer (14 Tage) verkleinerten sich jedoch die Hemmzonen auf Grund des Wachstumsdrucks vom Petrirand, bis der Fibroblastenrasen schließlich in engem Materialkontakt stand, und dies bei einer Socketolkonzentration von 1,8 mg/Petri. Lediglich Vakuolisierung der Zellen konnte festgestellt werden.

Terracortril erwies sich als noch verträglicher, bereits nach 24 Stunden war die Hemmzone verschwunden.

Die Untersuchung der Spezial-Parodontose-Salbe nach Dr. Sacher ist ähnlich aufgebaut wie die Prüfung der kortikoidhaltigen Salben durch Heidemann. Als Versuchszellen dienen primäre Gingivafibroblasten, die einen Vergleich mit dem Bindegewebe des marginalen Parodontiums zulassen.

Die Konzentrationsabhängige Bildung von Hemmhöfen und zytopathologische Veränderungen der Zellen stellen die Beurteilungskriterien der Wirksamkeit der Salbe dar. Zahlreiche Fotos sollen die Vorgänge in den Zellkulturen dokumentieren.

Material und Methode

Zellzüchtung

Die Monolayer-Gingivafibroblastenkultur wurde aus exzidiierter Gingiva nach operativer Weisheitszahnentfernung angezüchtet. Das Gewebstück kam sofort nach Exzision in auf +4°C abgekühlte sterile Hanks-balanced-salt-solution und verblieb für zwei Stunden bei dieser Temperatur im Kühlschrank.

Ausgangsgewicht in 4°C gekühlte Hanks
balanced salt solution

NaCl	8000 mg/l
K Cl	400 mg/l
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	60 mg/l
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-
KH_2PO_4	60 mg/l
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	-
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	200 mg/l
CaCl_2	140 mg/l
Glucose	1000 mg/l
Phenolrot	10 mg/l
NaHCO_3	350 mg/l
Antibiotika	
Bicarbonatzugabe	5ml einer 7%igen Lösung

Zusammensetzung von Hanks BBS, Ionenkonzentration pro Liter

Nach Entnahme aus dem Kühlschrank wurde die Gewebeprobe zweimal in +4°C kalter steriler Hankslösung gewaschen, dann in eine trockene sterile Petrischale gebracht und in ca. 1 mm² große Stücke geteilt. Da zur Anzüchtung von Fibroblasten lediglich das Bindegewebe gebraucht wird, wurde versucht, das Bindegewebe so gut wie möglich vom Epithel abzupräparieren.

Die quadratmillimeter großen Stückchen wurden schließlich in oberflächenbehandelte sterile Polystyrolpetrischalen von 50 mm Durchmesser zur Gewebsanzüchtung auf den Schalenboden gesetzt und bei Zimmertemperatur angetrocknet.

Nachdem nach etwa 5 - 20 Minuten, je nach Zustand des Gewebes, die Gewebstückchen durch Antrocknen am Boden befestigt waren, wurde 5 ml +4°C kaltes Kulturmedium zugesetzt.

Aqua dest.	700 ml
Basalmedium Eagle mit Hanks-Salzen	100 ml
L-Glutamin	10 ml
nicht ess. AS	10 ml
Tryptose 2,95%	90 ml
Kälberserum	100 ml
Bicarbonat	20 ml
+ Antibiotika (Penicillin und Streptomycin)	

Zusammensetzung des Mediums, pH-Wert 6,8-7,2.
Mengenangaben pro Liter

Die Petrischalen wurden schließlich im Brutschrank bei 37°C und einer Begasung von 4% CO₂ gelagert.

Nach dem 1. Tag im Brutschrank wurden die Aktivität der Kultur und die Adhärenz der Gewebstückchen überprüft.

Am 2. Tag erfolgte der erste Mediumwechsel, der daraufhin regelmäßig montags, mittwochs und freitags wiederholt wurde.

Nachdem sich in den Petrischalen genug Fibroblastenrasen rund um das Muttergewebstückchen gebildet hatte, erfolgte die erste Passage, um Fibroblasten in Reinkultur zu bekommen:

Das Medium wurde abgegossen, und die Schalen wurden zweimal mit Trypsin-EDTA-Lösung bei Zimmertemperatur gewaschen, um Reste des Kulturmediums herauszulösen, dann wurde zum drittenmal solange trypsiniert, bis sich die Fibroblasten abkugelten, aber noch an der Unterlage haften blieben. Durch den Vorgang des Trypsinierens wurden im Kulturgut noch etwaig vorhandene Epithelzellen zerstört. Das Trypsin wurde abgegossen und den Petrischalen wieder frisches +4°C kaltes Kulturmedium zugesetzt.

Die sich abgekugelten, aber noch auf der Unterlage haftenden Fibroblasten wurden dann unter dem Mikroskop mit einem sterilen Spatel abgehoben, so daß sie im Überstand auf dem Medium schwammen.

Diese Zellsuspension wurde abpipettiert und in eine neue Petrischale ausgesät. Schließlich sedimentierten die Einzelzellen in der neuen Schale, gingen innerhalb von 2 bis 3 Stunden wieder in ihre schlanke Form über, wuchsen, breiteten sich aus und begannen mit Mitoseaktivitäten. Es dauerte in der Regel 29 Tage, bis ein gleichmäßiger und dichter Fibroblastenrasen in Kultur ausgewachsen war. Um das Auswachsen eines dichten Rasens in der ersten Passage zu beschleunigen, sind Zellsuspensionen aus mehreren Petrischalen zusammen in eine Schale abpipettiert worden. Die einzelnen kleinen Fibroblastenrasen konfluieren schließlich zu einem Gesamtrasen.

Bei der zweiten Passage wurden schließlich die Fibroblasten einer Petrischale in 2 oder sogar 3 Schalen abpipettiert. Der Waschvorgang mit Trypsin-EDTA war der gleiche, auch erfolgte der Mediumwechsel der Petrischalen konstant montags, mittwochs und freitags.

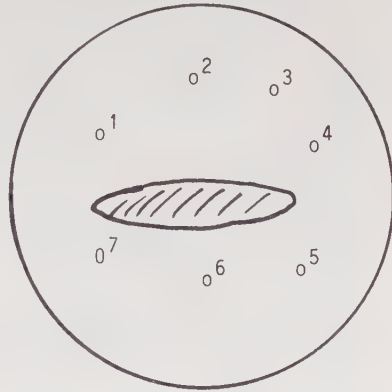
Es ist solange passagiert worden, bis genug Petrischalen für die einzelnen Versuche vorhanden waren.

Dies ist nach der 3. Passage der Fall gewesen.

Versuchsaufbau

P1) Den eigentlichen Versuchen wurde ein Vorversuch
- P1 - vorangestellt:

In die Mitte einer Petrischale wurde ein Salbenstrang der Spezial-Parodontose-Salbe gesetzt. Da es sich lediglich um einen Vorversuch handelte, wurde die Masse des Strangs nicht abgewogen. In einer Entfernung um den Salbenstrang herum wurden 7 Gewebsteilchen zur Anzüchtung ange-trocknet (siehe Zeichnung).



Als Kontrolle wurden in zwei weiteren leeren Petrischalen ebenfalls je 7 Gewebsteilchen angezüchtet.

P2) Nachdem in der zweiten Passage die Fibroblasten einen glatten und dichten Rasen ausgebildet hatten, wurden diese trypsiniert und passagiert.

Der jetzt zu beschreibende Versuch - P2 - stellte also die dritte Passage dar.

Die Fibroblastensuspension wurde in drei leere Petrischalen als Zellkontrolle gegeben.

Außerdem wurden Fibroblasten in 3 Petrischalen abpipettiert, auf deren Boden die Salbe kurz vor Zugabe der Fibroblastensuspension ausgestrichen worden war. Die Salbenstränge waren willkürlich ausgestrichen und erst danach abgewogen worden.

In den Petrischalen befanden sich folgende Salbenmengen:

Schale 1	0,0253 g
Schale 2	0,0627 g
Schale 3	0,0719 g

P3) Für diesen Versuch sind ebenfalls Fibroblasten aus der 2. Passage benutzt worden. Der Versuch wurde in der 3. Passage durchgeführt. In 4 Petrischalen wurde ähnlich wie im vorangegangenen Versuch - P2 - die Spezial-Parodontose-Salbe nach Sacher gegeben, danach wurden die Salbenmengen abgewogen, und erst dann wurde die Fibroblastensuspension hineinpipettiert.

2 Petrischalen dienten als Zellkontrolle.

Anordnung der Petrischalen von P3:

- 1.) Zellkontrolle
- 2.) Zellkontrolle
- 3.) Parodontosesalbe (=PS) 0,0317 g
- 4.) PS 0,0392 g
- 5.) PS 0,0283 g
- 6.) PS 0,0921 g

P4) Auch bei diesem Versuch befanden sich die Zellen in der 3. Passage.

In drei leere Petrischalen wurden trypsinierte Fibroblasten ausgesät.

Sie stellten die Zellkontrollen dar.

In 9 weitere Petrischalen, die die Testschalen darstellten, wurden vor Zugabe der Fibroblastensuspension unterschiedliche Mengen der Salbe auf den Boden gegeben:

Und zwar in die 1. Schale 0,01 g der Salbe,
in die 2. Schale 0,02 g,
bis zur 9. Schale,
in der 0,09 g der Salbe
eingebracht wurde.

P5) Die Fibroblasten für diesen Versuch stammten aus einem Fibroblastenrasen der 5. Passage. Der Rasen war glatt und dicht, die Fibroblasten hatten jedoch gegenüber denen aus den vorherigen Passagen ein etwas rundlicheres Aussehen.

Der Versuch P5 stellte die 6. Passage dar.

Ähnlich wie bei P4 wurden 10 Petrischalen vor der Fibroblastenpassage mit abgestuften Mengen der Parodontosesalbe versehen:

- 1.) 9,4 mg
- 2.) 20,1 mg
- 3.) 30,7 mg
- 4.) 40,4 mg
- 5.) 49,2 mg
- 6.) 61,4 mg
- 7.) 71,9 mg
- 8.) 81,0 mg
- 9.) 90,5 mg
- 10.) 100,8 mg

2 weitere Petrischalen dienten als Zellkontrolle.

Als nächster Versuch sollte die Wirkung von reinem Procain-Hydrochlorid auf die Fibroblastenkultur der Wirkung der Parodontosesalbe gegenübergestellt werden.

Bedauerlicherweise zeigten die Zellkulturen eine Erschöpfung ihrer Wachstumspotenz, so daß sie nicht mehr weiter verwendet werden konnten.

Neue Fibroblastenkulturen mußten also angezüchtet werden.

P6) Nach Neuanzüchtung wurde mit Fibroblasten gearbeitet, die sich in der 3. Passage befanden.

2 Petrischalen dienten als Zellkontrolle, 10 weitere enthielten das Testmaterial.

Versuchsanordnung:

1. Zellkontrolle	
2. Zellkontrolle	
3. PS	0,01 g/Petri
4. PS	0,02 g/Petri
5. PS	0,03 g/Petri
6. PS	0,04 g/Petri
7. PS	0,05 g/Petri
8. Procain-Hydrochlorid	0,001 g/Petri
9. "	0,002 g/Petri
10. "	0,003 g/Petri
11. "	0,004 g/Petri
12. "	0,005 g/Petri

Während die Salbe wie üblich vor der Passage in die leeren Petrischalen eingebracht wurde, konnte das lösliche Procain-Hydrochlorid dem Medium der Zellkultur zugefügt werden. Aus einer Stammlösung Procain-Hydrochlorid betrug der Ansatz im Medium 10 mg/ml.

P7) Der letzte Test an Fibroblastenkulturen der 4. Passage wurde ausschließlich mit Procain-Hydrochlorid durchgeführt

16 Petrischalen wurden angelegt:

1. & 2. Zellkontrollen	
3. & 4. Procain-Hydrochlorid	0,05 mg/ml = 0,25 mg/Petri
5. & 6. "	0,1 mg/ml = 0,5 mg/Petri
7. & 8. "	0,15 mg/ml = 0,75 mg/Petri
9. & 10. "	0,2 mg/ml = 1,0 mg/Petri
11. "	0,3 mg/ml = 1,5 mg/Petri
12. "	0,4 mg/ml = 2,0 mg/Petri

13.	"	0,5 mg/ml =
		2,5 mg/Petri
14.	"	0,6 mg/ml =
		3,0 mg/Petri
15.	"	0,7 mg/ml =
		3,5 mg/Petri
16.	"	0,8 mg/ml =
		4,0 mg/Petri

Auswertung

Die Vorgänge in den Zellkulturen bei Anwesenheit der Parodontosesalbe und des Procain-Hydrochlorid können zum größten Teil nur deskriptiv beurteilt werden. Die Auswertung der Versuche erfolgte auf zwei Weisen: Bei allen 7 Tests erfolgte eine ständige Überwachung und Kontrolle der lebenden Zellen mit dem Phasenkontrastmikroskop "Dialux" von Leitz. Über die Vorgänge und Veränderungen in den Kulturen wurde Buch geführt. Nach Abschluß eines jeden Versuchs wurden die Petrischalen fixiert und gefärbt mit der panoptischen Färbung nach Papenheim.

Abspülen mit warmer physiologischer NaCl;
 3 Minuten trocknen lassen;
 verdünnte May-Grünwald-Lösung daraufgeben
 (2,5 ml auf 2,0 ml aqua dest.) abkippen, nicht abspülen;
 verdünnte Giemsa-Lösung darüber geben
 (10 Tropfen auf 10 ml aqua dest.),
 15 Minuten stehen lassen;
 mit Wasser abspülen

Fixierung und Färbung nach Papenheim

Bei allen Tests außer P1, welcher lediglich einen Vorversuch darstellte, erfolgte nach Fixierung und Färbung der Versuch einer quantitativen Auswertung

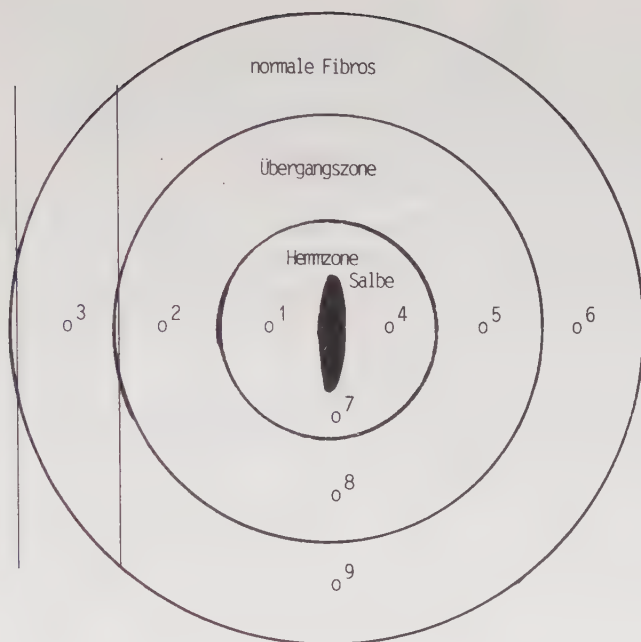
unter Verwendung des Mikroskops "Ultraphot" der Firma Zeiss. Diese Auswertung erwies sich als überaus schwierig gegenüber der qualitativ-deskriptiven Auswertung, die die Morphologie der Zellen und deren Veränderungen in der Hemm- und Übergangszone sowie am Petrischalenrand beschreibt.

Um numerische Angaben der Zellveränderungen und Schädigungen zu machen, mußte eine Auszählung der Zellen erfolgen. Die Petrischalen wurden auf jeweils 500 Zellen ausgezählt. Bei steigender Konzentration der Salbe vergrößerte sich die Hemmzone dergestalt, daß schließlich sogar am Petrirand kein normaler Fibroblastenrasen mehr sichtbar war, und der ganze Schalenboden abgesehen von ein paar wenigen geschädigten abgekugelten und bizarr geformten Fibroblasten leer-gelegt war.

Das andere Extrem waren Schalen mit einem gleichmäßig gewachsenen Rasen normal aussehender langgestreckter Fibroblasten, z.B. in den Zellkontrollen.

So kommt es, daß man je nach salbenkonzentrations-abhängiger Fibroblastendichte in dem Sichtfeld einer Objektiveinstellung 300 Fibroblasten und in einer anderen Einstellung einen oder gar keinen sieht.

Bei nicht allzu hohen Konzentrationen bis zu 0,04 g Parodontosesalbe pro Petrischale zeigt die Kulturschale das gewohnte Bild von Hemmzone, Übergangszone und normalem Fibroblastenrasen am Rand. Es stellt sich nun als schwierig dar, die Zellen objektiv auszuzählen. Würde die Auszählung lediglich am Rand vorgenommen werden, käme das Ergebnis zustande, daß von 500 ausgezählten Fibroblasten 500 ein normales langgestrecktes, ungeschädigtes Aussehen haben. Erfolgte die Auszählung jedoch nur in der Hemmzone, so würde als Ergebnis die 100%ige Zellschädigung präsentiert werden. Um solche Manipulationen zu vermeiden, habe ich das Objektiv des Mikroskops ohne durch das Okular zu



Verschiedene Objektiveinstellungen auf die Petrischalen

blicken auf einen Punkt parazentral in der Nähe des Salbenstrangs eingestellt (Einstellung 1), die nächste Blindeinstellung erfolgte am Rand (Einstellung 3) und wieder die nächste dazwischen (Einstellung 2). Erst nach der Blindeinstellung wurde durch das Okular geblickt und die Auszählung vorgenommen. Bei hoher Zelldichte, wenn im Sichtfeld einer Einstellung allein schon ca. 300 Fibroblasten auszumachen waren, wurde nur die Hälfte des Feldes ausgezählt, um auch die anderen Zonen zu erfassen. Bei geringerer Zelldichte genügten 3 Einstellungen nicht, weitere (4-9) mußten hinzugenommen werden.

In Fällen totaler Schädigung wurde von mir auf eine Auszählung verzichtet, denn es gab nichts mehr zu zählen. In zwei Fällen extrem geringer Zelldichte (P5 mit 81,0 mg PS/Petri und P6 mit 0,05 g PS/Petri) war ich gezwungen, die Schalen nicht auf 500 sondern auf 250 Zellen auszuzählen.

Dieser Versuch einer quantitativen Aussage ist mit einer hohen Fehlerquote behaftet. Der statistische Aussagewert mag gering sein. Die Tabellen und die Diagramme auf Seite 68 ff. unterstreichen jedoch die rein deskriptive Auswertung.

Beide Auswertungen zusammen besitzen genug Aussagekraft über die Wirkung der Spezial-Parodontose-Salbe auf zellulärer Ebene.

Ergebnisse

P1 Da der Vorversuch mit Gewebsteilchen vor der Behandlung mit Trypsin-EDTA-Lösung durchgeführt wurde, konnte das Aussprießen nicht nur von Fibroblasten sondern auch von Epithelzellen und somit die Wirkung der Salbe auf beide Zellarten beobachtet werden. Der Test erstreckte sich über 16 Tage.

Der erste Mediumwechsel wurde am 5. Tag nach Versuchsbeginn vorgenommen,

der 2. Mediumwechsel am 7. Tag, der 3. am 9. Tag, der 4. am 12. Tag, der 5. am 14. Tag, und der letzte Mediumwechsel erfolgte am 16. Tag.

Bei jedem Mediumwechsel wurden die beiden Zellkontroll- und die Testpetrischale begutachtet.

Die Überprüfung beim ersten Mediumwechsel zeigte in allen drei Petrischalen ein normales Aussprießen kleiner bis mittelgroßer Epithelzellrasen aus den Gewebsstücken. Fibroblasten sprossen nur vereinzelt aus und zeigten noch keine Tendenz, kleine Rasen zu bilden, so wie es die Epithelzellen taten. Die Zellen der Testpetrischalen sahen genauso normal aus wie die der beiden Kontrollschalen. In der ersten Zellkontrollschale war von den 7 Gewebsstücken eines abgeschwommen, aus einem zweiten Gewebsstück waren noch keine Zellen ausgesprossen. In der zweiten Zellkontrolle zeigten 2 der 7 Gewebsstücke keine Zellaussprießungen, während in der Testschale aus allen 7 Gewebssproben Zellen aussprossen. Die Begutachtung beim 2. Mediumwechsel am 7. Tag nach Versuchsbeginn zeigte in den Zellkontrollen nun bei allen Gewebssproben ausgesprossene Zellen. Da in der ersten Zellkontrolle ein Gewebsstück bereits zu Beginn abgeschwommen war, konnten hier nur 6 Proben beobachtet werden. Die Epithelzellrasen hatten sich in allen drei Schalen vergrößert, auch die Zahl der Fibroblasten nahm zu, die jedoch immer noch keinen Rasen bildeten.

Bei vier Gewebeproben, die in der Testschale von der Parodontosesalbe weiter entfernt waren, sahen die ausgesprossenen Zellen - Epithelrasen wie Fibroblasten - normal aus. Bei den drei anderen waren Abweichungen festzustellen, bei jeweils zwei Proben wurde eine doppelkernige Zelle gesehen.

Die Überprüfung beim 3. und beim 4. Mediumwechsel zeigte, daß die ausgesprossenen Zellen der Versuchspetrischale im Gegensatz zu den beiden Zellkontrollen zum Teil stark granuliert und vakuolisiert waren. Außerdem waren die Fibroblasten schmaler als normal und ihre Membrane stärker lichtbrechend. Nichtdestoweniger vergrößerten sich in allen drei Petrischalen die Epithelzellrasen. Und auch die ersten kleinen Fibroblastenrasen wurden gesehen. Außerdem war bei der ersten Zellkontrollschale eine weitere Gewebeprobe abgeschwommen. Die beiden letzten Überprüfungen am 14. und 16. Tag zeigten dagegen keinen eindeutigen Unterschied mehr zwischen den Kontroll- und Versuchszellen. In allen drei Petrischalen hatten sich nun auch Fibroblastenrasen gebildet.

P2 Zwei Stunden, nachdem die Fibroblastenzellsuspension in die drei Zellkontroll- und in die drei Versuchsschalen mit der Parodontosesalbe gegeben wurde, erfolgte die erste Begutachtung. Die Fibroblasten in den drei Zellkontrollpetrischalen waren gut sedimentiert und begannen sich auszubreiten.

Nicht viel anders verhielten sich die Fibroblasten in den drei Testpetrischalen, nur daß etwas weniger Zellen sedimentiert waren. Selbst im salbennahen Bereich war die Sedimentation der Fibroblasten normal.

Die zweite Betrachtung der Zellkulturen erfolgte 24 Stunden nach Versuchsansatz. In den drei Kontrollschalen waren die Fibroblasten gut weitergewachsen, an manchen Stellen hatte sich bereits ein dichter Rasen ausgebildet. Andere Stellen waren noch nicht so dicht bewachsen.

In der ersten Testpetrischale mit der Salbenkonzentration von 0,0253 g waren die Fibroblasten im direkten Bereich der Salbe fast alle defekt. Nur wenige Zellen sahen im Kontaktbereich noch normal aus. Einige Fibroblasten waren doppelkernig. Die Zellen zum Petrischalrand hin wirkten normal, jedoch waren sie in ihrer Form mehr dürr, spitz und eckig. Die beiden anderen Schalen mit den Salbenkonzentrationen 0,0627 g und 0,0719 g zeigten größere Zellschäden. In Salbennähe waren die Fibroblasten abgekugelt oder zeigten Merkmale der Zerstörung, sie waren entweder geplatzt oder wiesen Potozytosen auf. Die Hemmhöfe waren groß, und in ihren Bereichen befanden sich nur geschädigte Zellen. Normale Fibroblasten befanden sich nur noch im Randbereich der Petrischalen, lagen jedoch nicht so dicht wie in den Zellkontrollen.

Bei der dritten Betrachtung am 2. Tag nach Versuchsansatz zeigte es sich, daß der Fibroblastenrasen in den drei Zellkontrollen dichter gewachsen war. In der Mitte der Schalen war die Kultur bereits besonders dicht und gleichmäßig ausgewachsen, während die Dichte zum Rand hin noch nicht so hoch war.

Teilweise zeigten die Zellen leichte Granulationen, außerdem konnten sehr viele Mitosen beobachtet werden. In der ersten testpetrischale mit der niedrigen Salbenkonzentration wurde eine kleine Hemmzone festgestellt. Obgleich innerhalb dieser Hemmzone geschädigte Zellen vorhanden waren, konnten Fibroblasten in geringer Entfernung von der Salbe gedeihen, die ein normales langgestrecktes Aussehen hatten.

Die Fibroblasten in den beiden anderen Schalen waren bis zum Rand geschädigt. Einige wenige schlank aussehende Fibroblasten, deren Membrane jedoch verändert waren, konnten lediglich am Schalenrand festgestellt werden.

Am 3. Tag nach versuchsbeginn erfolgte ein Mediumwechsel. Die Fibroblastenrasen in den drei Zellkontrollen waren zu diesem Zeitpunkt nahezu dicht.

Dagegen wies die erste Testpetrischale viele abgekugelte Zellen auf, nur einige wenige Fibroblasten hatten noch ihre normale langgestreckte Form. Vermutlich war der größte Teil der Zellen bereits soweit degeneriert, daß sie ihre Wachstumspotenz verloren hatten.

In den beiden anderen Testschalen waren die meisten Zellen sogar schon abgeschwommen. Es konnten keine normalen Zellen mehr gefunden werden. Nur einige wenige Fibroblasten hatten noch ihre ausgebreitete Form, aber sie waren wesentlich kürzer als normale Fibroblasten.

Die letzte Überprüfung erfolgte am 6. Tag nach Versuchsbeginn. Während in den drei Zellkontrollen ein glatter, dichter Fibroblastenrasen gleichmäßig ausgewachsen war, zeigten die drei Testpetrischalen nur noch stark geschädigte oder abgeschwommene Fibroblasten.

In den beiden Schalen mit der hohen Salbenkonzentration war die Schädigung total, dagegen konnte man bei der niedrigeren Konzentration von 0,0253 g Parodontose-salbe in der Schale noch einzelne zwar geschädigte aber ausgebreitete Fibroblasten erkennen.

Nach diesen Beobachtungen wurden die 6 Schalen fixiert und gefärbt (s.o.). Danach wurden eine der drei Kontrollschalen und die erste Testpetrischale (0,0253 g PS/Petri) auf 500 Zellen ausgezählt. Bei den beiden anderen Testpetrischalen erfolgte keine Auszählung, es gab nichts mehr zu zählen. Das Ergebnis der Auszählung ist der Tabelle I zu entnehmen (s.S. 68).

P3 Die erste Begutachtung zwei Stunden nach Aussaat der Fibroblastenzellsuspension zeigte sowohl in den beiden Kontrollpetrischalen als auch in den 4 Testschalen eine gute Fibroblastensedimentation und ein normales Ausbreiten. Sogar in dichtem Kontakt zur Salbe waren die Fibroblasten unauffällig.

Am darauffolgenden Tag konnte beobachtet werden, wie sich der Fibroblastenrasen in den beiden Zellkontrollen weiter gut ausbreitete. In allen 4 Testpetrischalen bot sich das gleiche Bild: Die Zellen, die in dichtem Kontakt zur Salbe lagen, waren alle degeneriert. Die Fibroblasten der Übergangszone, welche einer schmalen Hemmzone folgte, besaßen zwar ihre lang ausgestreckte Form, doch deren Aussehen und Membranaufbau waren dergestalt, daß sie nicht mehr als normal bezeichnet werden konnten.

Ohne daß eine klare Trennlinie zu erkennen war, folgten zum Schalenrand hin Fibroblasten, die auf den ersten Blick ein normales Aussehen hatten. Doch es zeigten sich auch einige doppelkernige und vakuolisierte Zellen. Vom Gesamtbild her war die Fibroblastendichte in den Testschalen fast genauso hoch wie in den beiden Zellkontrollen.

Am 4. und am 6. Tag nach Versuchsansatz erfolgten jeweils verbunden mit dem notwendigen Mediumwechsel die nächsten beiden Inspektionen.

In den beiden Kontrollschalen war ein glatter und dichter Fibroblastenrasen ausgewachsen, während die 4 Testpetrischalen alle ein Bild der Zellveränderungen boten. Petrischale Nr. 6 mit der hohen Salbenkonzentration von 0,0921 g zeigte zwar am 4. Tag noch die gleiche Anordnung in Hemmzone, Übergangszone und normale Fibroblasten wie die anderen Testpetrischalen, am 6. Tag jedoch war kein normaler Fibroblastenrasen mehr vorhanden, und die geschädigten Zellen reichten bis zum Schalenrand.

Petrischale Nr. 5 mit der geringsten Salbenkonzentration von 0,0283 g zeigte eine unterschiedlich breite Hemmzone, die jedoch deutlich kleiner war als die der anderen Testschalen. An einigen Stellen war der Fibroblastenrasen sogar bis dicht an das Material herangewachsen, wobei die Zellen allerdings auch Schädigungen aufwiesen.

Schale Nr. 4 mit 0,0392 g Parodontosesalbe zeigte gegenüber Schale Nr. 3 mit 0,0317 g ein besseres Bild.

Die Hemmzone war kleiner und die Übergangszone breiter. Auch der Anteil von normal gewachsenen Fibroblasten war größer als in der 3. Petrischale.

Die Schädigungen in allen 4 Testpetrischalen umfaßten Vakuolisierungen, Granulierung und Abkugelungen.

Bei dem Fibroblastenrasen außerhalb von Hemm- und Übergangszone, dessen Aussehen von mir als normal bezeichnet worden war, muß die Einschränkung gemacht werden, daß die Fibroblasten stärker als normal granuliert waren.

Am 8. Tag nach Versuchsansatz erfolgte nach dem Mediumwechsel die 5. Inspektion. Die Petrischalen 1 und 2 mit den Zellkontrollen wiesen einen glatten und dichten Fibroblastenrasen auf.

Schale 3 mit der Salbenkonzentration von 0,0317 g zeigte Stellen, wo die Salbe ganz normal von den Zellen umwachsen wurde. Sieht man von der zum Teil starken Granulierung ab, so wirkten die Fibroblasten zumeist normal. Abgesehen von einigen Kontaktstellen war die Hemmzone rund um die Salbe groß. Vom Rand wuchsen jedoch Fibroblasten in diese Zone ein. Diese Zellen waren allerdings stark verändert, die meisten hatten ihre schlanke langausgestreckte Form verloren und waren verkürzt und dick und granuliert.

Die Testpetrischalen 4 und 5 zeigten einen dichtgewachsenen normalen Fibroblastenrasen. Bei beiden konnte nur noch eine schmale zellfreie Hemmzone rund um das Testmaterial festgestellt werden. Die Inspektion der letzten Petrischale mit der hohen Salbenkonzentration brachte eine Überraschung. Die Fibroblasten hatten sich wahrscheinlich auf Grund des Mediumwechsels erholt. Wenn die Zellen auch bis zum Schalenrand geschädigt und verändert waren, so hatte sich das Wachstum doch verstärkt, und die Fibroblasten breiteten sich vom Rand bis zum Zentrum hin aus.

Bei den mit Mediumwechsel verbundenen Kontrollen am 11. und am 13. Tag nach Versuchsansatz wurde schließlich festgestellt, daß in den Kulturen der Wachstumsdruck der Fibroblasten so zugenommen hatte, daß die Hemmzonen bewachsen wurden und die Zellen im Kontakt zur Salbe gediehen, wobei nur die im unmittelbaren Kontaktbereich befindlichen Zellen granuliert waren, und die anderen ein normales Aussehen hatten. Die Tendenz zum Bewachsen der Hemmzone konnte auch bei der 6. Petrischale mit der hohen Salbenkonzentration beobachtet werden. Diese und auch die 5. Schale mußten jedoch verworfen werden, da die Kulturen unsteril geworden waren.

Am 15. Tag nach Versuchsbeginn wurden die Kulturen schließlich fixiert. In den beiden übriggebliebenen Testschalen hatte sich der Zustand nicht mehr verändert. Die Schalen waren über ihre Gesamtfläche bis in direktem Kontakt zur Salbe mit einem dichten Fibroblastenrasen bedeckt. Bei der Schale mit einer Salbenmenge von 0,0317 g erfolgte eine Fibroblastenzählung auf 500 Zellen (s.S. 68).

P4 Zwei Tage nach Versuchsansatz ergab die erste Inspektion , daß sich die Fibroblasten in den drei Zellkontrollpetrischalen gut sedimentiert hatten. Sie waren gewachsen, hatten aber noch keinen sehr dichten Rasen gebildet.

Die Testpetrischalen mit 0,01 g und 0,02 g Parodontosesalbe zeigten keinen Unterschied zu den Zellkontrollen. Eine Hemmzone war kaum auszumachen, und im direkten Kontakt zur Salbe lagen normale Fibroblasten.

Die Kultur mit 0,03 g Parodontosesalbe wies bereits einen deutlichen Hemmhof auf, dessen Breite jedoch nicht allzu groß war. Innerhalb der Hemmzone konnte man zum Teil schon geschädigte Fibroblasten mit Potozytoseerscheinungen und Vakuolisierung feststellen. Die restlichen Fibroblasten hatten jedoch einen Rasen ausgebildet, der dem aus den Zellkontrollen ähnlich war.

Bei den anderen Testpetrischalen mit den salbenkonzentrationen 0,04 g bis 0,09 g zeigte sich schließlich eine konzentrationsabhängige Zunahme der Hemmzonen und Abnahme der Fibroblastendichte.

Die zweite Überprüfung am 4. Tag nach Versuchsansatz, die sich dem ersten Mediumwechsel anschloß, erbrachte, daß der Fibroblastenrasen in den drei Zellkontrollen immer noch nicht ganz dicht ausgewachsen war. Das gleiche Bild bot sich bei den Testschalen mit 0,01 g und 0,02 g Salbe. In beiden Schalen hatte sich nur eine schmale Hemmzone gebildet, in der mit 0,02 g Salbe war die Hemmzone auf einer Seite etwas breiter. Einge Fibroblasten in direktem Salbenkontakt sahen normal aus, andere wiederum zeigten bereits Veränderungen an ihren Zellmembranen. Bei steigender Salbenmenge zeigte sich schließlich eine Vergrößerung der Hemmzone, sowie die Zunahme der Zellschädigung.

In den Übergangszonen konnten Potozytosen, Vakuolisierung und Membranveränderungen festgestellt werden. Die Dichte des Zellrasens reduzierte sich.

Bei einer Konzentration von 0,07 g konnten am Petrischalensrand neben normalen Fibroblasten bereits geschädigte Zellen gesehen werden. Bei 0,08 und 0,09 g hatte sich die Zahl geschädigter Zellen am Schalenrand noch weiter vergrößert, und sehr große Hemmzonen waren entstanden.

Am 8. Tag nach Versuchsansatz erfolgte zusammen mit einem Mediumwechsel die dritte Inspektion. In den drei Zellkontrollen hatte sich mittlerweile ein glatter, dichter und gleichmäßiger Zellrasen gebildet, obschon einer von den dreien nicht ganz so dicht wie die anderen war.

Die erste Testschale mit 0,01 g Salbe wies ebenfalls einen gleichmäßig gewachsenen Fibroblastenrasen auf, lediglich eine schmale Hemmzone konnte rundherum um das Testmaterial gesehen werden. Trotzdem gab es Zellen, die im Kontakt zu Salbe lagen. Solche Zellen zeigten stärkere Vakuolisierungen, die restlichen Fibroblasten waren normal.

Bei 0,02 g Salbe sah es ähnlich aus. Jedoch war der Hemmhof bereits breiter, und auch eine Übergangszone mit stark vakuolisierten Fibroblasten konnte festgestellt werden. Erst dann schloß sich ein normaler Zellrasen wie in den Kontrollschalen an. Bei den Petris mit der Salbenmenge 0,03 g bis 0,05 g zeigte sich eine deutliche Verbreiterung von Hemm- und Übergangszone. Nur am Schalenrand wuchs noch ein normaler Fibroblastenrasen. Bei 0,06 g und 0,07 g hatte sich die Übergangszone bereits bis zum Schalenrand ausgedehnt, so daß keine normal geformten Fibroblasten mehr gefunden werden konnten. Es zeigte sich außerdem, daß die Schale mit 0,07 g Salbe unsteril geworden war. Sie mußte daher verworfen werden. Während in der vorletzten Schale mit 0,08 g Salbe nahezu alle Zellen abgeschwommen waren, einige völlig degenerierte Fibroblasten aber noch dem Schalenboden anhafteten, waren in der Schale mit 0,09 g keine Zellen mehr zu finden. Bei der letzten Inspektion 11 Tage nach Versuchsbeginn erfolgte die Fixierung der Kulturen. Zwei weitere Petrischalen (0,02 g und 0,05 g) mußten als unsteril verworfen werden. Die Testschale mit 0,01 g Salbe wies einen den Zellkontrollen ähnlichen gleichmäßigen dichten Fibroblastenrasen auf. Die Salbe war allseitig umwachsen worden - jedoch nur unter Bildung einer schmalen zellfreien Zone, so daß die Zellen also keinen Materialkontakt hatten. Die der Salbe nahegelegenen Zellen zeigten Vakuolisierungen, einige waren doppelkernig. Bei 0,03 g und 0,04 g zeigten sich große zellfreie Hemmhöfe und Übergangszonen mit vakuolisierten Fibroblasten. Lediglich am Petrischalenrand konnte noch ein normaler Zellrasen festgestellt werden, dessen Dichte jedoch nicht so groß war wie in den Zellkontrollen. Bei 0,06 g hatte sich die Hemmzone noch weiter vergrößert, und die Übergangszone reichte bis zum Petrischalenrand, so daß kein normaler Fibroblastenrasen mehr zu sehen war.

In den beiden letzten Testschalen mit 0,08 g und 0,09 g waren schließlich keine Fibroblasten mehr vorhanden. Das Ergebnis der Auszählung ist der Tabelle III auf Seite 69 zu entnehmen.

P5 Bei der Inspektion zwei Stunden nach Versuchsbeginn wurde festgestellt, daß die Fibroblasten in den zwei Zellkontrollschalen und in den zehn Testschalen mit der Parodontosesalbe gleichmäßig sedimentiert waren. Bereits am dritten Tag nach Versuchsansatz wurden die Kulturen fixiert und gefärbt. Folgende Beobachtungen wurden gemacht:

In den beiden Kontrollschalen hatte sich ein schöner aber noch nicht ganz so dichter Fibroblastenrasen ausgebildet. Außerdem hatten die Fibroblasten in ihrer Gesamtheit alle eine schmalere, schlankere und spitzere Form.

Bei 9,4 mg Parodontosesalbe waren fast alle Fibroblasten vakuolisiert. Was die Form betraf, so war kein Unterschied zu den Zellkontrollen festzustellen. Bei dieser Salbenmenge war die Hemmzone noch schmal. Zum Teil konnte direkter Kontakt von vakuolisierten Zellen zur Salbe festgestellt werden.

Bei 20,1 mg hatte sich die Hemmzone um den Salbenstrang deutlich vergrößert. An einer Stelle, wo die Salbe sehr dünn ausgestrichen war, konnte Kontakt festgestellt werden. Es konnte nicht direkt erkannt werden, ob der Hemmzone eine Übergangszone folgte. Alle Fibroblasten waren in Kern und Plasma stark granuliert, und es wurden viele vakuolisierte Zellen gesehen.

Bei 30,7 mg war eine deutliche große Hemmzone zu erkennen, ebenso eine gleichgroße Übergangszone. Der Fibroblastenrasen, der sich dann anschloß, glich in seiner Form dem der Zellkontrollen, allerdings muß erwähnt werden, daß auch hier die Zellen stärker granuliert waren.

In der Schale mit 40,4 mg Parodontosesalbe hatte sich die Salbe zum größten Teil vom Boden gelöst und schwamm im Medium. Auf Grund dieser Tatsache konnte in der gesamten Petrischale kein normaler Fibroblastenrasen mehr beobachtet werden. Alle Fibroblasten waren vakuolisiert und geschädigt.

Spitze stachelige Dreiecksformen und Abkugelungen überwogen. Und die primäre Haftstelle der Salbe war bis auf einige wenige atypische Fibroblasten unbewachsen.

In der Schale mit 49,2 mg war das gleiche geschehen. Auch hier hatte sich die Salbe von der Unterlage gelöst und schwamm im Medium. Man konnte sagen, daß die Fibroblasten zu 100% zu vakuolisierten und abgekugelten Formen geschädigt waren.

Über die letzten fünf Petrischalen läßt sich sagen, daß bis zum Rand nur noch geschädigte Zellen zu erkennen waren. Diese Zellen, die allesamt vakuolisiert waren, ließen sich praktisch nach ihrer Form nur noch in zwei Gruppen unterteilen:

in abgekugelte und in dünne, verkürzte.

Mit zunehmender Salbenmenge wurde die Zahl der Fibroblasten in den Petrischalen deutlich geringer. Hat man in der Schale mit 61,4 mg noch Zellen gefunden, die in einem Rasenverband zusammenlagen, so konnte man in den anderen Schalen nur noch vereinzelt liegende Fibroblasten sehen.

Viele Zellen waren bereits abgeschwommen, so daß bei den hohen Konzentrationen (81,0 mg; 90,5 mg; 100,8 mg Parodontosesalbe) der Petrischalenboden fast vollständig leer war, und nur am Schalenrand noch einige wenige geschädigte Zellen gefunden werden konnten. Dementsprechend schwierig erwies sich die Auszählung, deren Ergebnis aus der Tabelle IV auf Seite 70 ersichtlich ist.

P6 Der Vergleichsversuch zwischen Parodontosesalbe und Procainhydrochloridsubstanz erstreckte sich über 13 Tage. Die erste Inspektion der Zellkulturen erfolgte einen Tag nach Versuchsbeginn.

In den beiden Zellkontrollen hatten sich die Fibroblasten gut sedimentiert und dehnten sich aus.

In der Schale Nr. 3 und 4 mit der Salbenmenge 0,01 g und 0,02 g waren die Zellen ebenfalls gut sedimentiert. Sogar in direktem Salbenkontakt sahen die Zellen normal aus. Einige Fibroblasten fielen wegen ihrer Doppelkernigkeit auf. In den drei anderen Testschalen mit der Parodontosesalbe war der Eindruck ähnlich, in Materialnähe konnten jedoch schon defekte Zellen, Abkugelungen und Potozytosebildungen, festgestellt werden.

Die Schale Nr. 7 mit 0,05 g Parodontosesalbe hob sich dadurch deutlich von den anderen hervor, daß weniger Zellen sedimentiert waren.

Schale Nr. 8 mit 0,001 g Procainhydrochlorid unterschied sich nicht von den Zellkontrollen. Dagegen hatte Schale Nr. 9 mit 0,002 g Procain-HCl deutlich weniger Fibroblasten als die Zellkontrollschalen, obgleich die Zellen noch ein normales Aussehen hatten.

Bei der Konzentrationssteigerung von Procainhydrochlorid von 0,003 g bis 0,005 g konnte eine Zunahme vakuolisierter Zellen beobachtet werden. Zeigte die Schale 10 nur einige wenige vakuolierte Zellen, so waren fast alle Fibroblasten in Schale 12 mehr oder weniger stark vakuolisiert.

Am 3. Tag nach Versuchsbeginn erfolgte ein Mediumwechsel. Bei den Procainhydrochloridtestschalen wurde mit dem Mediumwechsel eine erneute Testsubstanzzugabe vorgenommen. Die Betrachtung der Zellkontrollen ergab, daß in der ersten Kontrollschale der Zellrasen noch nicht ganz so dicht ausgewachsen war, wohingegen sich der Rasen der zweiten Kontrollschale dicht, aber immer noch nicht vollständig ausgebildet hatte.

Bei 0,01 g Parodontosesalbe sah der Zellrasen nicht viel anders aus als in den Zellkontrollen. Während stellenweise einige Zellen im Kontakt zur Salbe wuchsen, hatte sich woanders eine schmale Hemmzone gebildet. Auch hier zeigte sich wieder, daß bei steigender Salbenmenge die Größe der Hemmzone zunahm, in dem selben Maße breitete sich eine Übergangszone aus.

Hatte Schale 4 mit 0,02 g Salbe am Rand noch einen schönen Fibroblastenrasen und nur in der Übergangszone degenerierte und vakuolisierte Zellen, so reichte die Übergangszone mit geschädigten Zellen in Schale Nr. 5 bereits bis zum Rand. Das gleiche Bild boten die beiden anderen Schalen mit der Parodontosesalbe, nur waren die zytopathologischen Effekte hier noch krasser.

Die Schalen Nr.8 und 9 mit 0,001 g und 0,002 g Procainhydrochlorid stachen auf Grund der Fibroblastenform von den Kontroll- und Parodontosesalbentestkulturen ab.

Die Zellen hatten zackige und eckige Formen.

Schlanke langgestreckte Fibroblasten waren nicht mehr aufzufinden. Relativ viele mitotische Zellen wurden gesehen, desweiteren doppelkernige.

Bei 0,003 g Procain-HCl waren fast 70% der Zellen nur noch abgekugelt, und in den beiden anderen Petrischalen mit 0,004 g und 0,005 g Procain-HCl sah man dünne, spitze, zackige und eckige Fibroblasten, die sich stellenweise so zu Knäueln zusammengeschachtelt hatten, daß die Zellgrenzen der einzelnen Fibroblasten nicht immer zu erkennen waren.

Die dritte Inspektion erfolgte am 6. Tag nach Versuchsbeginn. Auch diesmal wurde ein Mediumwechsel vorgenommen, bei den Procainhydrochloridschalen erfolgte zusammen mit dem Medium Testsubstanzzugabe.

In den beiden Zellkontrollen hatte sich die Monolayerkultur weiter ausgebildet, war aber immer noch nicht ganz dicht.

Bei 0,01 g Parodontosesalbe war die Dichte wie in den Zellkontrollen, einige Fibroblasten waren vakuolisiert.

Die Hemmzone war immer noch sehr schmal, und einige normal aussehende Fibroblasten gediehen in Salbenkontakt. Um 0,02 g Salbe war die zellfreie Zone breiter. Wie bei der Inspektion drei Tage zuvor konnte eine breite Übergangszone mit stärker vakuolisierten Zellen und Fibroblasten mit Membranveränderung festgestellt werden. Der sich der Übergangszone anschließende Zellrasen wirkte fast wie in den Zellkontrollen, war aber nicht ganz so dicht.

Bei 0,03 g Salbe konnten nur noch am Petrischalenrand Fibroblasten erkannt werden, doch die waren bereits schwer geschädigt. Dahingegen konnte man bei 0,04 g Salbe am Rand noch normale Zellen sehen. Und bei 0,05 g Parodontosesalbe waren fast keine Zellen mehr vorhanden. Die Schalen mit 0,001g und 0,002 g Procain-HCl hatten zwar einen dichten Fibroblastenrasen ausgebildet, der stellenweise sogar dichter war als in den Zellkontrollen, aber das Aussehen der Zellen war keineswegs mehr normal. Wie schon bei der vorhergehenden Inspektion beobachtet, hatten die Fibroblasten eine zackige, dürre und spitze Form. Viele waren vakuolisiert und mehrkernig (2-3 Kerne). In den drei weiteren Testschalen mit steigender Procainhydrochloridkonzentration konnte deutlich die Tendenz zur Abnahme der Zelldichte und zur pathologischen Größenzunahme der Einzelzelle beobachtet werden. Die Zellen waren nicht nur einfach stärker vakuolisiert. Viele Zellen bildeten 3 bis 5 Riesenvakuolen und waren bis auf das zehnfache ihrer normalen Größe aufgebläht. Andere Riesenzellen hatten ihre Größe auf Grund von Mehrkernigkeit erreicht. Nicht nur 2 bis 3, sondern bis zu 5 Kerne konnten gezählt werden.

Bei der 4. Begutachtung, die nach einem Mediumwechsel am 8. Tag nach Versuchsansatz stattfand, wurde festgestellt, daß der Fibroblastenrasen in Schale 3 mit 0,01 g PS genauso gut weitergewachsen war wie in den beiden Zellkontrollen. Lediglich im Kontaktbereich lagen die Fibro-

blasten nicht ganz so dicht. In der Schale 4 mit 0,02 g PS war die Dichte des Zellrasens nicht ganz so hoch, der Hemmhof hatte sich jedoch verkleinert, da die Fibroblasten von außen in ihn hineinwuchsen.

Die Zellen, die die Hemmzone bewachsen hatten, sahen normal aus. Schale 5 mit 0,03 g PS mußte verworfen werden, da nur noch ganz wenige geschädigte Zellen vorhanden waren. Diese starke zytopathologische Veränderung konnte mit der geringen Salbenmenge, die hier getestet wurde, nicht in Einklang gebracht werden.

Bei einer Salbenmenge von 0,04 g zeigte sich am Petrischalenrand ein nicht ganz so dichter Rasen wie in den Zellkontrollen. Außerdem waren die Zellen stärker vakuolisiert, jedoch wuchsen auch hier normale Fibroblasten in die Hemmzone ein, welche allerdings größer war als die von Schale 3 und 4.

In der Salbenschale mit 0,05 g wurde dagegen nur noch ein schmaler Rand mit einem nicht sehr dichten Rasen aber bestehend aus normalen Fibroblasten gesehen. Die sehr breite Hemmzone wies keine Zellen auf.

In der 8. Petrischale mit 0,001 g Procain-HCl war der Fibroblastenrasen noch dichter als in den Zellkontrollen, die Zellen waren jedoch wesentlich stärker granuliert und vakuolisiert. Viele Fibroblasten waren mehrkernig. Während bei 0,002 g Procain-HCl der Fibroblastenrasen sogar noch dichter war als in der 8. Petrischale, zeigte die 10. Petrischale mit 0,003 g Procain-HCl eine deutliche Abnahme der Zelldichte. In beiden Kulturschalen hatten die zytopathologischen Veränderungen jedoch zugenommen.

In den Schalen 11 und 12 waren die Schädigungen noch weitergegangen. Bei sehr geringer Zelldichte waren fast nur noch riesige Zellen mit vielen Riesenvakuolen und mehreren Kernen vorhanden. Andere Fibroblasten waren in großer Zahl bereits abgeschwommen.

Am 10. Tag nach Versuchsansatz erfolgte die vorletzte Inspektion, die mit einem Mediumwechsel verbunden war.

Die letzte wurde drei Tage später durchgeführt. Beide Inspektionen erbrachten im wesentlichen keine neuen Beobachtungen.

Bei 0,01 g PS war der Fibroblastenrasen immer noch so dicht wie in den Zellkontrollen, wohingegen der Zellrasen bei 0,02 g Parodontosesalbe eine geringere Dichte aufwies. Es zeigte sich aber, daß der Hemmhof langsam von Fibroblasten bewachsen wurde.

In den Schalen mit 0,04 g und 0,05 g PS waren die Hemmzonen immer noch sehr groß bei geringer Fibroblastendichte. An keiner Stelle reichten die Zellen bis an die Salbe heran. Ebenso die 5 Schalen mit den unterschiedlichen Procainhydrochloridkonzentrationen zeigten nichts, was nicht auch bei den vorhergegangenen Inspektionen beobachtet worden war.

Tabelle V auf Seite 71f. zeigt das Ergebnis der Auszählung.

P7 Beim letzten Versuch, der ausschließlich mit Procainhydrochlorid durchgeführt wurde, erfolgte die erste Inspektion 24 Stunden nach Versuchsansatz.

In den beiden Zellkontrollpetrischalen waren die Fibroblasten gut sedimentiert und zu langen, schlanken Zellen ausgewachsen.

In der 3. bis zur 8. Petrischale, also in den Schalen mit der Procainhydrochloridkonzentration von 0,05 mg/ml bis 0,15 mg/ml war der Eindruck der gleiche wie in den Zellkontrollen.

In den Schalen Nr. 9 und 10 mit 0,2 mg/ml waren bereits einzelne abgekugelte Fibroblasten zu sehen. Auch die Vakuolenbildung nahm zu. Nur noch wenige Fibroblasten hatten ihre lange und schlanke Form, die meisten Zellen waren deutlich dicker geworden. Es konnten viele Mitosen beobachtet werden, die sich aber nicht im Idealzustand befanden.

Während die Schale Nr. 11 mit 0,3 mg/ml Procain-HCl gegenüber den Schalen Nr. 9 und 10 nur eine geringfügige Verschlechterung aufwies, waren die Zellveränderungen in der 12. Petrischale mit 0,4 mg/ml schon weiter fortgeschritten. Es konnten viele doppelkernige Zellen beobachtet werden. Einige Zellen waren bereits abgeschwommen.

Bei der Zunahme der Procain-HCl-Konzentration auf 0,5 mg/ml und 0,6 mg/ml wurden die ersten Riesenzellen festgestellt. Während die Granulierung der Zellen zunahm, reduzierte sich die Fibroblastendichte. Die beiden letzten Testpetrischalen boten im Prinzip das gleiche Bild. Die Vakuolisierung der Zellen schien noch mehr zugenommen zu haben.

Am 2. Tag nach Versuchsansatz wurde ein Mediumwechsel vorgenommen. Bei der Inspektion wurde festgestellt, daß in den beiden Zellkontrollschalen der Fibroblastenrasen gut weitergewachsen, aber noch nicht ganz so dicht war.

In den folgenden 4 Testschalen von 0,05 mg/ml bis 0,1 mg/ml Procain-HCl sah die Zellkultur genauso aus wie in den Zellkontrollen. Im Gegensatz zu den Beobachtungen des ersten Tages konnten allerdings bei 0,15 mg/ml die ersten kleinen Vakuolenbildungen in einigen Zellen gesehen werden.

Die nächsten 8 Testpetrischalen mit den Procain-HCl-Konzentrationen von 0,2 mg/ml bis 0,8 mg/ml zeigten schließlich dieselben Veränderungen, die bereits am Tag zuvor gesehen wurden.

Am 5. Tag nach Versuchsbeginn wurden die Zellkulturen fixiert und gefärbt. In den beiden Zellkontrollen waren die Fibroblastenrasen glatt und dicht ausgewachsen.

In den beiden Schalen mit 0,05 mg/ml Procain-HCl schien der Zellrasen sogar noch dichter gewachsen zu sein. Vielleicht waren aber auch schon ein paar mehr Zellen als in den Kontrollen vakuolisiert.

In den nächsten beiden Testpetrischalen mit 0,1 mg/ml Procain-HCl schien die Zelldichte noch größer zu sein. An Stellen besonders hoher Zelldichte war allerdings auch die Vakuolisierung der Zellen höher. Auch die Granulierung war stärker. 90% der Fibroblasten hatten noch ihre langgezogene, schlanke Form. Die restlichen Zellen waren kurz und gedrunken.

Bei 0,15 mg/ml nahmen Vakuolisierung und Granulierung zu. Letztere Zellveränderung verstärkte sich noch mehr bei 0,2 mg/ml Procainhydrochlorid, außerdem war eine deutliche Steigerung der Doppelkernigkeit zu beobachten. In der 11. Schale mit der Procain-HCl-Menge von 0,3 mg/ml zeigten schließlich alle Fibroblasten verstärkte Granulierungen. Ebenso nahm die Zahl riesiger und mehrkerniger Zellen zu.

Ab 0,4 mg/ml war schließlich die Tendenz der Zelldichtenabnahme zu erkennen. Außerdem wurde die schlanke langgestreckte Fibroblastenform abgelöst von einer dünnen, spitzen Dreiecksform. Dies war schließlich das Bild, das sich in den restlichen Petrischalen bis zur Procain-HCl-Konzentration von 0,8 mg/ml bot:

geringe Zelldichte von spitzen und dünnen Fibroblasten. Hervorstechend aus diesem Gesamteindruck war eine verhältnismäßig hohe Zahl von Riesenzellen, sowie mehrkernige und vakuolisierte Fibroblasten. Auch abnorme Kernveränderungen (sonderbar gelappte Formen) und atypische Mitosen fielen auf.

Tabelle VI zeigt das Ergebnis der Auszählung.

P2	Zellko.	0,0253 g PS	0,0627 g PS	0,0719 g PS
norm. Fibros	448	9	keine Aus-	keine Aus-
Fibros mit gr. Kern	30		zählung,	zählung,
" " gelappten Kern	11		vereinzelt	100%
mehrkernige	7	5	sieht man	Total-
Karyolyse	1	191	verkümmerte	schaden
Mitosen	3	2	langgestreck-	
abgekugelte Fibros		240	te Fibros,	
Potozytose		9	ansonsten	
Kern ohne Zelleib		44	Totalschaden	

Tabelle I: Auszählung der Petrischalen von P2 auf 500 Zellen

Tabelle II: Auszählung der Petrischalen von P3 auf 500 Zellen

P3	Zellkontrolle	0,0317 g PS	0,0392 g PS
normale Fibros		411	keine Auszählung,
vakuolisierte		54	da hier dieselbe
mit gr. Kern		14	Situation vor-
" " " & vakuolisiert		8	herrscht wie
abgekugelt		7	bei 0,0317 g PS
Potozytose		3	
Mitose		1	
Zelleib ohne Kern		1	
Kern ohne Zelleib		1	
	keine Auszählung; glatter dichter Fibroblastenrasen annähernd 100% norm. Fibros	man beachte den Wider- spruch zu der Auszäh- lung von P2, Zellschädi- gung nur im Kontaktbe- reich	

P/4	Zellko.	0,01 g PS	0,03 g PS	0,04 g PS	0,06 g PS*)	0,08 g PS	0,09 g PS
normale Fibros		431			17		
vakuolisierte		46	112	73	35	keine Fibros	
mehrkernige		3	7	8	5	mehr	
Potozytose		12	9	5	3		
Riesenzellen		5	16	15	11		
Karyolyse		2	26	2	10		
Mitose		1	3	4	3		
dürre spitze F.			297	385	147		
abgekugelte			21	8	9		
Kern mit Zellverlust			9		10		
	100% norm. Fibros zu dichten Rasen ausgewachsen						

Bei den Mengen von 0,03 g und 0,04 g Parodontosesalbe zeigten die Fibroblasten im Gegensatz zu ihrer normalen schlanken Form mehr eine dürre spitze stachelförmige Gestalt. Der Fibroblastenrasen war nicht so dicht und der Hemmhof breit.

*) Achtung: bei 0,06 g PS herrschte eine sehr geringe Zelldichte, es wurde daher nur auf 250 ausgezählt.

Tabelle III: Auszählung der Petrischalen von P4 auf jeweils 500 Zellen (Ausnahme: s.o.)

P5	Zellko.	9,4 mg PS	20,1 mg PS	30,7 mg PS	40,4 mg PS	49,2mg PS	61,4 mg PS	71,9 mg PS	81,0 mg PS	90,5 mg PS	100,8 mg PS
normale	396	97	112*)	207*)			125		33 gran 56 vak		18
Riesen	8		7	5	7		5		-		69 vak
abgekugelte	48	24		26	119		292		34 gran 63 vak		17
mehrkernige	11	5	3	6	6		5		5		8
Mitose	6	2	4	5	1		3				
gelappter Kern	9	4	44	47							
Plasma ohne Kern	9	1		4	58		20		28		24
Kernpyknose	13	28	40	24	65						
vakuolierte		333	284	168	107*)				119*)		313 schlanke Form
Potozytose		6	6	8	37		2		9		11
spitze stachelige					100						
Karyolyse											40
	Fibroblasten nicht so dicht wie bei vorherigen Versuchen, alle Fibr. insgesamt schmäler, schlanker, spitzer	fast alle Fibrös vakuoliert	*aber stark granuliert, alle Fibr. in Kern & Plasma	*aber stark granuliert	hier überwiegen spitze stachelige Formen & Abkugeln	keine Auszählung, 100% Schädigung zur vakuol., abgekugelten Form	nur noch vakuolierte Formen	nur noch sehr wenig am Rand; 50% dünne, vakuolis. & 50% abgekugelte vakuolisierte. Auf Auszählung wurde verichtet	Cave: Auszählung auf 250 bildet die Summe aus den 56 vak. normalen und den 63 vak. abgekugelten	gleiches Bild wie bei 81,0mgPS auf Auszählung wurde verichtet	

Tabelle IV: Auszählung der Petrischalen von P5 auf jeweils 500 Zellen; Ausnahme: bei 81,0 mg PS erfolgte Auszählung nur auf 250

P6	Zellkontr	0,01 g PS	0,02 g PS	0,04 g PS	0,05 g PS *)
normale schlanke	328	120	118	72	
abgekugelte	18	161	45	22	8
granulierte	60	18	12	48	70
vakuolierte	29	22	157	135	99
mehrkernige	19	24	30	22	7
Riesen	32	27	11	13	10
Mitosen	1				
Plasma ohne Kern	10		5	3	5
Karyolyse	2		1		
Potozytose	2		1	2	
spindelürre		131	119	179	47
gelappter Kern			1		
Fibros mit Riesenvakuolen				4	9

* Achtung: Bei 0,05 g Parodontosesalbe erfolgte die Auszählung wegen geringer Zelldichte nur auf 250 Zellen.

Tabelle V-Teil1: Auszählung der Petrischalen von P6
(Versuch mit Parodontosesalbe) auf 500 Zellen (siehe Ausnahme)

P6 Fortsetzung	0,001 g Procain-HCl	0,002 g Pr-HCl	0,003 g Pr-HCl	0,004 g Pr-HCl	0,005 g Pr-HCl
normale schlanke *)	170	328	202	145	77
abgekugelte	36	37	37	12	10
granulierte		500*)	500*)	500*)	500*)
vakulisierte	50	31	131	196	301
mehrkernige	38	32	37	13	25
Riesen	30	28	15	32	27
Mitosen					
Plasma ohne Kern	3	5	4	5	3
Karyolyse					
Potozytose		2	2		2
spindeldürre	173	35	60	76	21
gelappter Kern					
Fibros mit Riesenvakuolen		2	22	21	34
*das Gros der normalen Fibros hat eine zackige und eckige Form		* alle Fibroblasten sind besonders stark granuliert, daher wird die Zahl 500 bei den granulierten noch einmal extra angegeben.			

Tabelle V-Teil 2: Auszählung der Petrischalen von P6
(Versuch mit Procain-Hydrochlorid) auf 500 Zellen

P7	Zellko	0,05 mg/ml	0,05 mg/ml	0,1 mg/ml	0,1 mg/ml	0,15 mg/ml	0,15 mg/ml	0,2 mg/ml	0,2 mg/ml
norm. schlanke	486	463	472	479	467	471	463	458	468
Riesen	7	16	8	14	6	10	4	9	3
Kernpyknose	1				1	2	1	1	
Mitose	2	5	3	2	5	2	8	4*)	4
mehrkernige	4	10	7	1	10	7	6	17	10*)
vakuolierte		6	5		4	3	10	5	7
granulierte			5	4				3**)	1
gelappter Kern					7	4	8	3	7
Plasma ohne Kern	,					1			
				das überwiegende Bild der Fibros ist nicht nur schlank sondern auch gedrungen		Gesamteindruck d. Fibros: spitzer & dünner		*danunter 2 atypische *besonders stark	*danunter einer mit 2 Riesen-kernen
				ab 0,1 mg/ml Procainhydrochlorid sind die Kerne alle etwas stärker granuliert					

Tabelle VI - Teil 1: Auszählung der Petrischalen von P7
- gesamter Versuch mit Procainhydrochlorid -
auf jeweils 500 Zellen

P7 Fortsetzung	0,3 mg/ml	0,4 mg/ml	0,5 mg/ml	0,6 mg/ml	0,7 mg/ml	0,8 mg/ml
norm. schlanke	448	453				
Riesen	17	14	10	21	16	18
Kernpyknose			3	2	2	
Mitose	5*)	5	7	6*)	3*)	2
mehrkernige	20	15	12	17	18	19
vakuolisierte	3	11	10	14	24	18
granulierte						
gelappter Kern	7	2	5	11	14	18
Plasma ohne Kern			3			
dürre spitze			449	426	422	425
Potocytose			1	3	1	
	alle Zellen ver-granuliert	weniger starke Granulierung; Dichte nimmt ab	dürre spitze Fibrösen lösen die Form ab	*4 atyp.	*2 atyp.	
	*keine atypische					

Tabelle VI - Teil 2: Auszählung der Petrischalen von P7
- gesamtter Versuch mit Procaïnhydrochlorid -
auf jeweils 500 Zellen

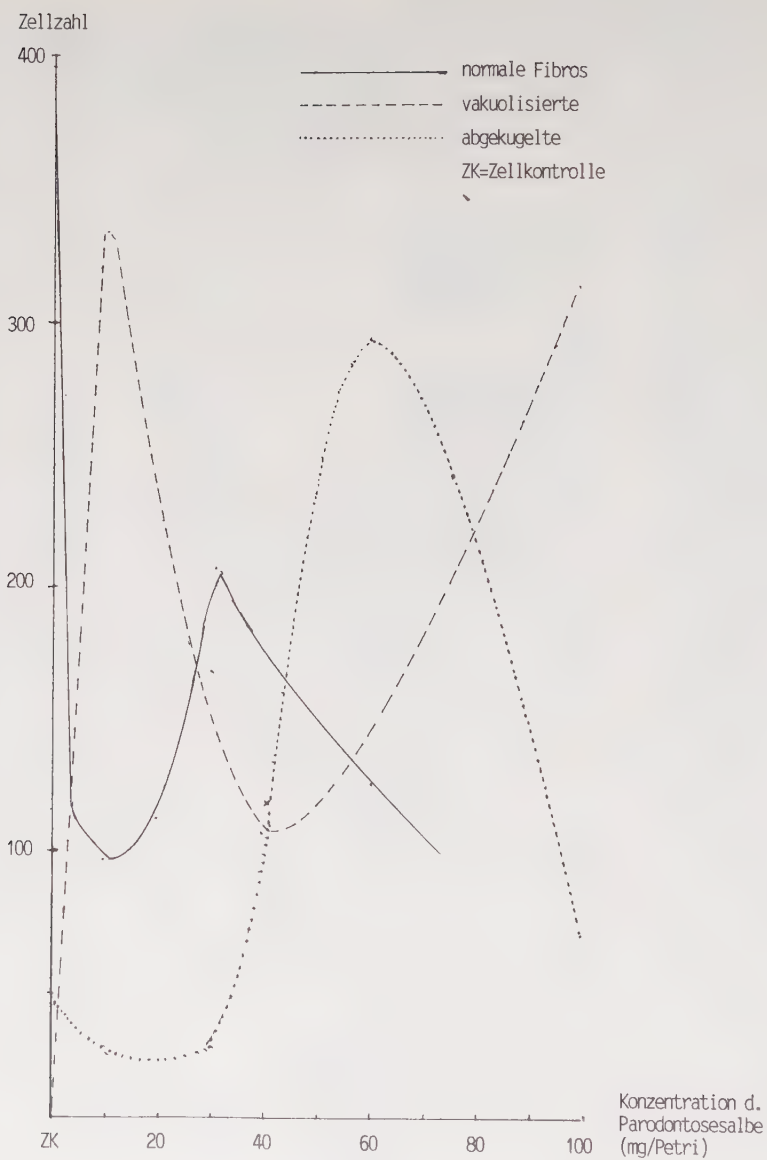


Diagramm I: Werte aus Tabelle IV - P5 - gemittelt

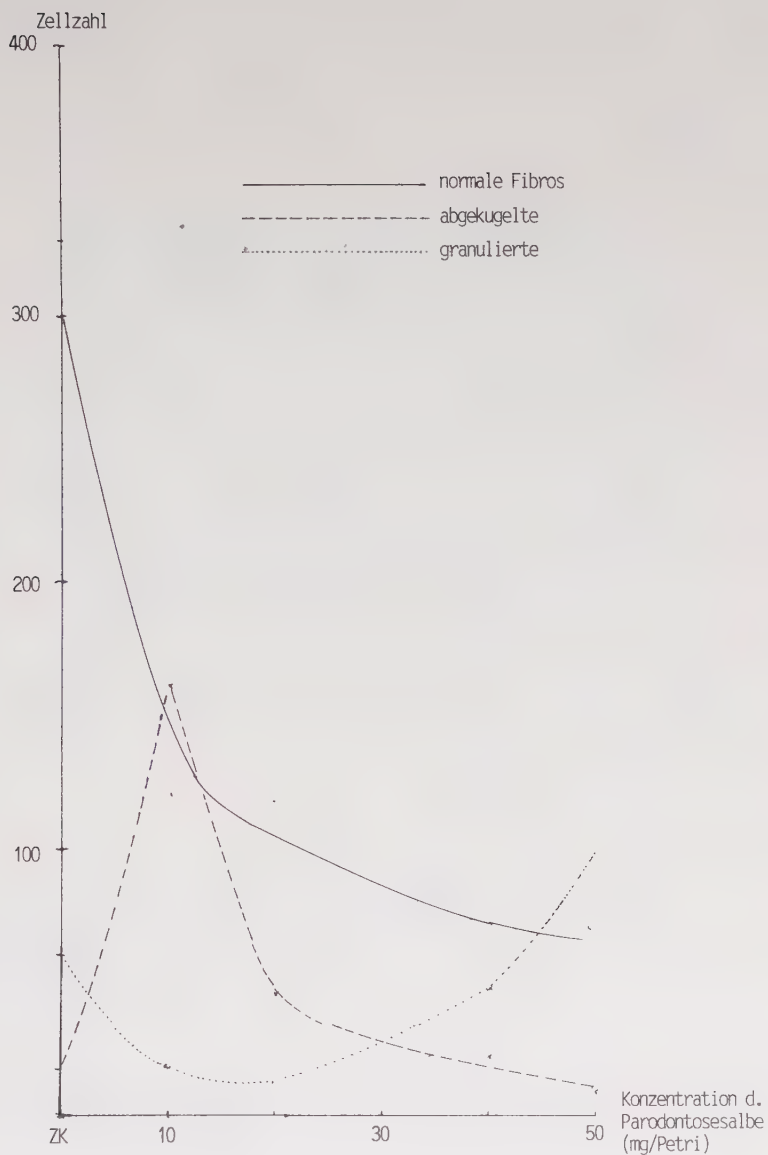


Diagramm IIa: gemittelte Werte aus Tabelle V - Teil 1
 - P6 - Versuch mit Parodontosesalbe

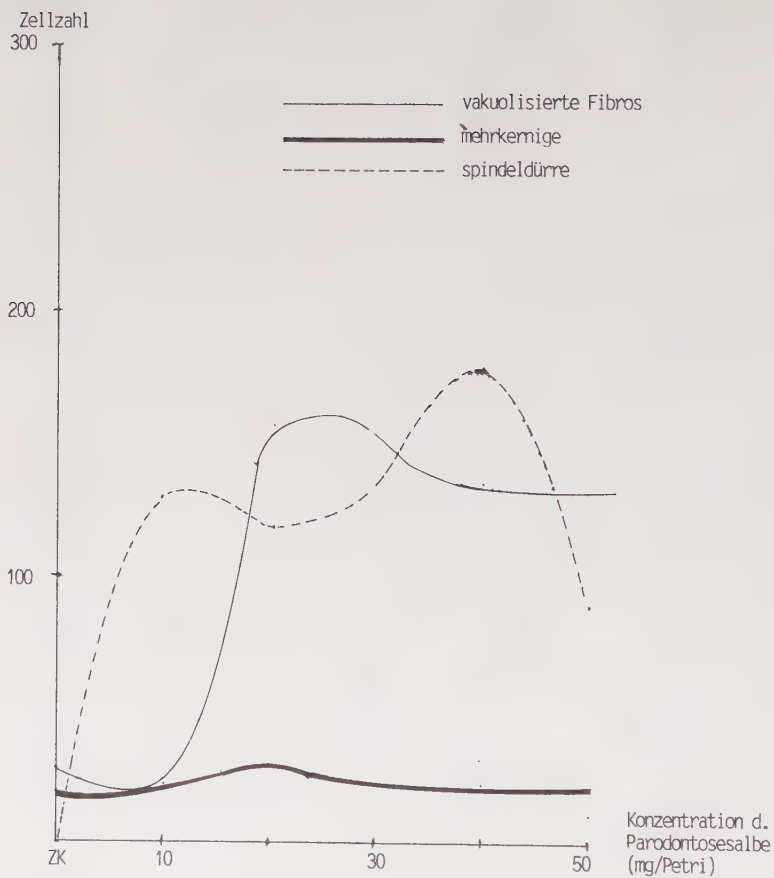


Diagramm IIb: gemittelte Werte aus Tabelle V - Teil 1
 - P6 - Versuch mit Parodontosesalbe

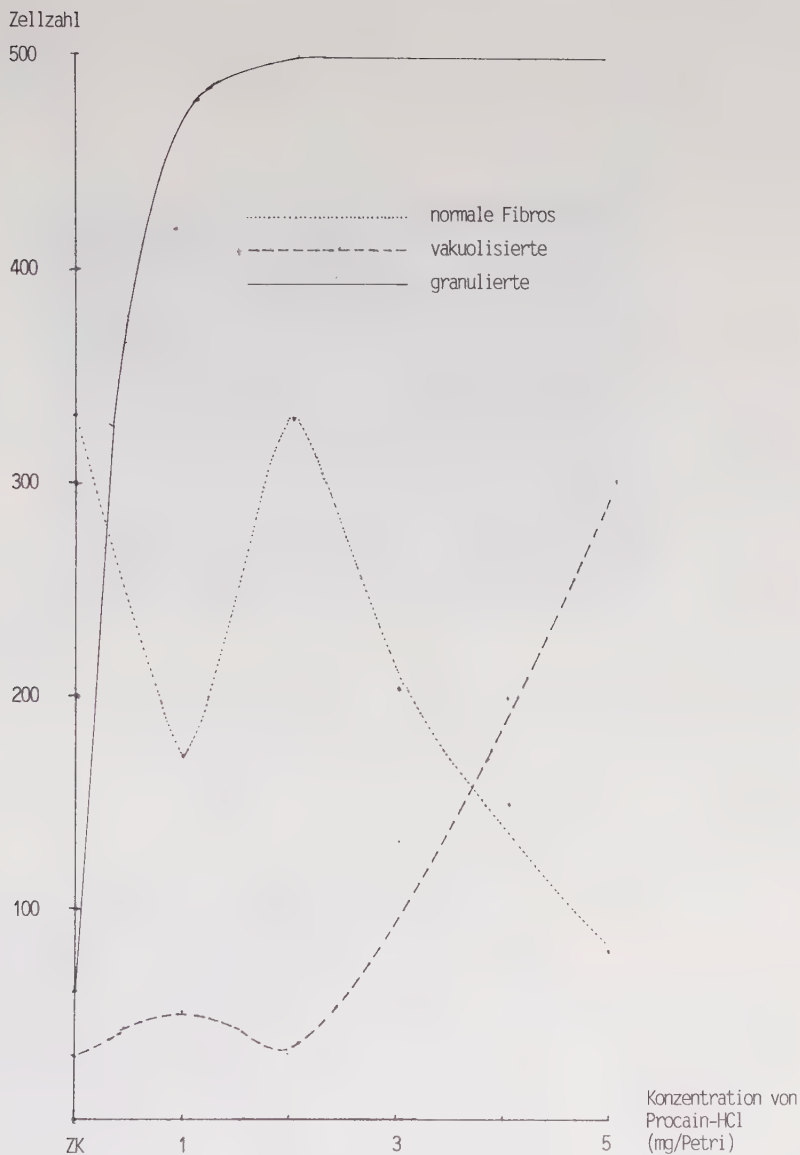


Diagramm IIIa: gemittelte Werte von Tabelle V - Teil 2
 - P6 - Versuch mit Procain-Hydrochlorid

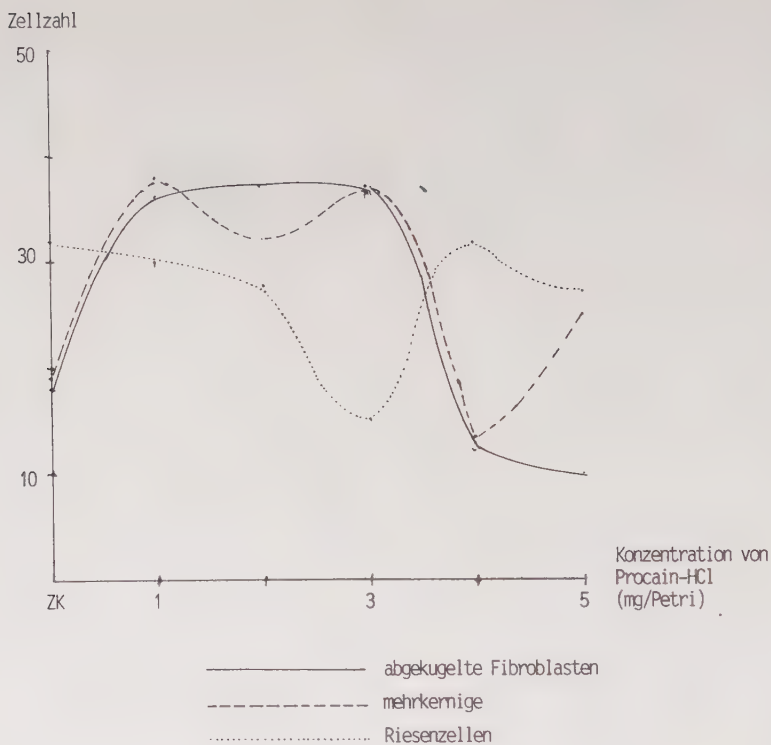
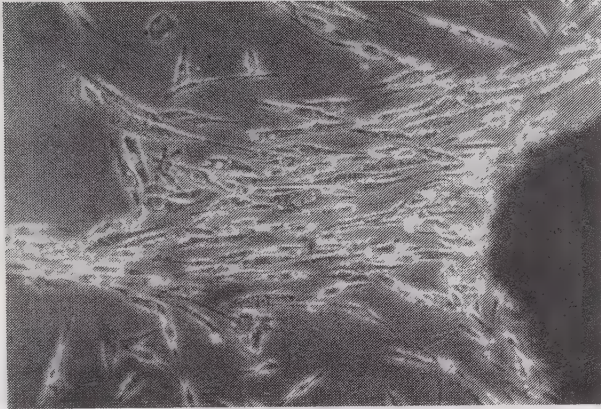
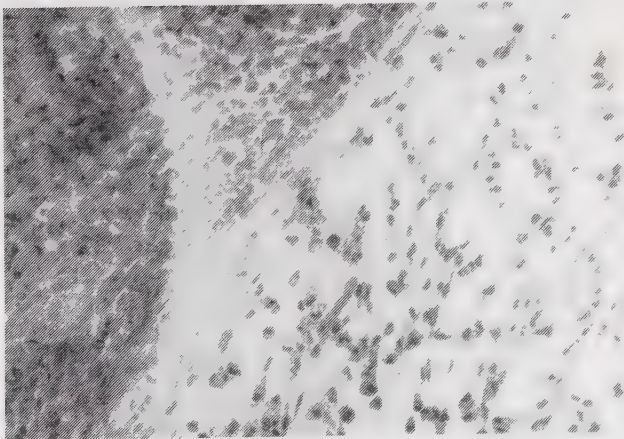


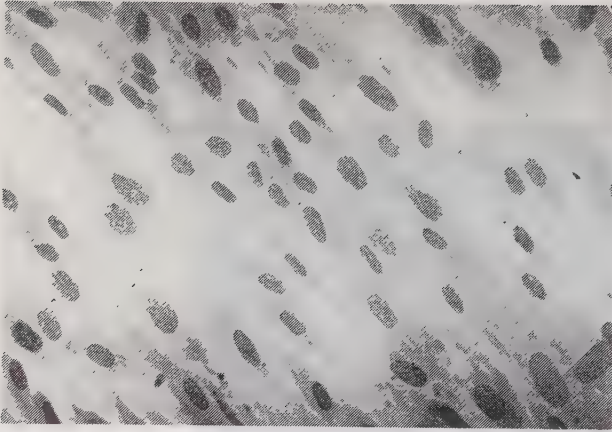
Diagramm IIIb: gemittelte Werte von Tabelle V - Teil 2
 - P6 - Versuch mit Procain-Hydrochlorid



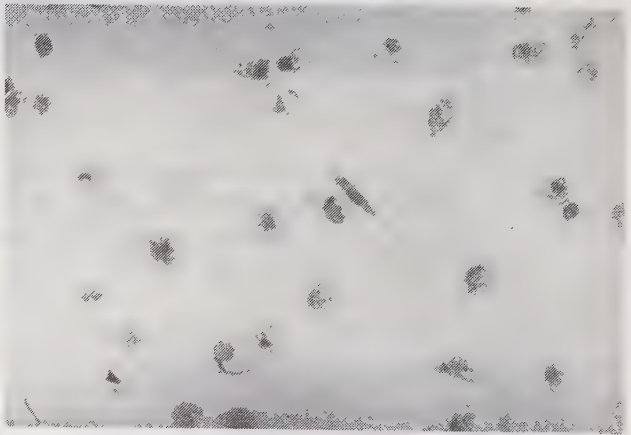
Das Foto zeigt Gewebeprobe Nr. 6 am 10. Tag in Kultur. Auffallend ist die starke Granulation der Fibroblasten und die höhere Lichtbrechung der Zellmembran.



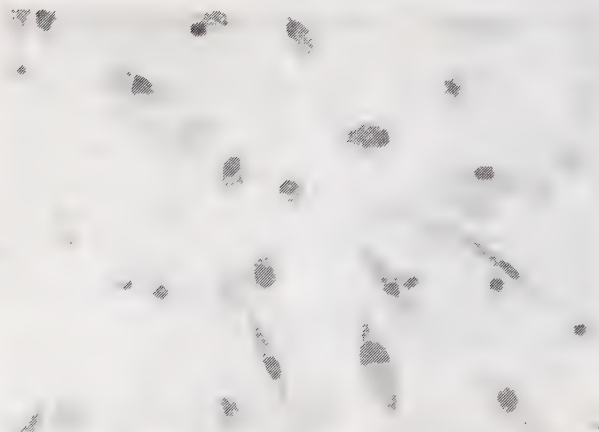
Das 2. Foto zeigt die Grenze zwischen dem bereits etablierten Epithelrasen und dem sich bildenden Fibroblastenrasen.



Zellkontrolle
mit einigermaßen dichten
Fibroblastenrasen

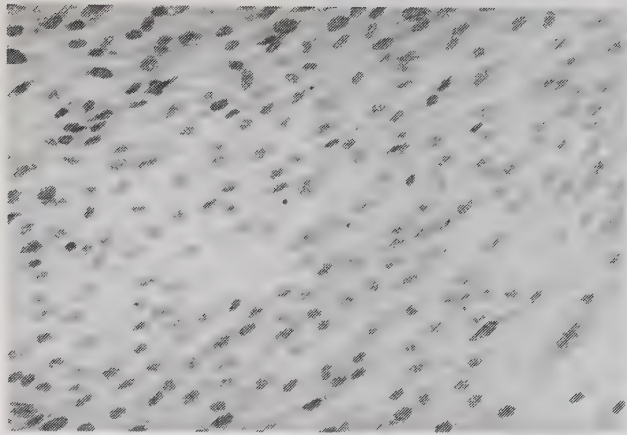


Salbenkonzentration
0,0253 g
Bildeinstellung in
Salbennähe



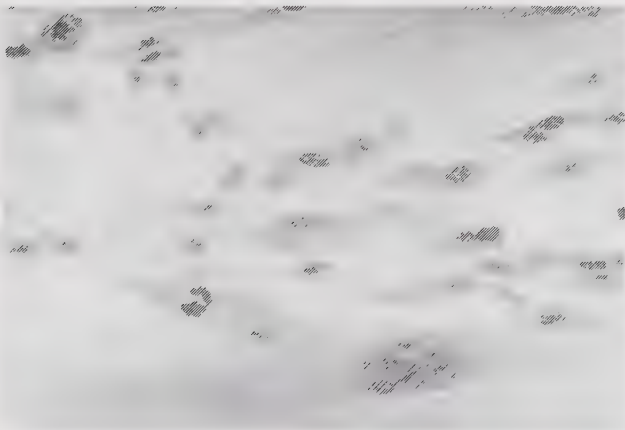
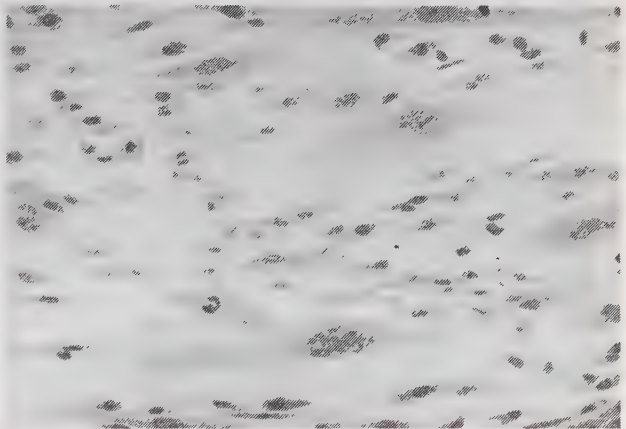
Salbenkonzentration
0,0253 g
Einstellung auf
materialentfernte Zone,
auch hier starke Zellschädigung, obgleich
die Zelldichte höher ist.

Fotos zu P3

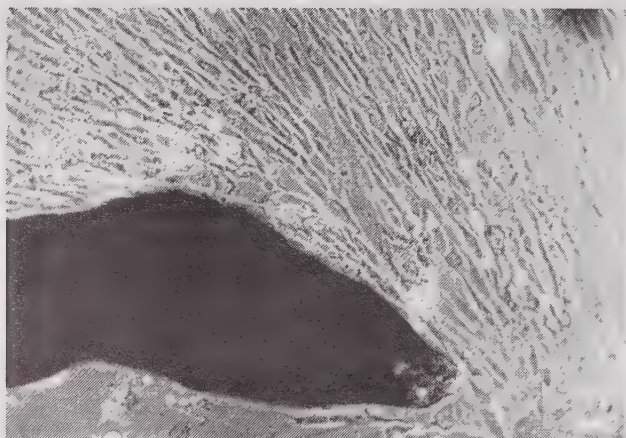


Zellkontrolle
dichter gleich-
mäßiger Fibro-
blastenrasen

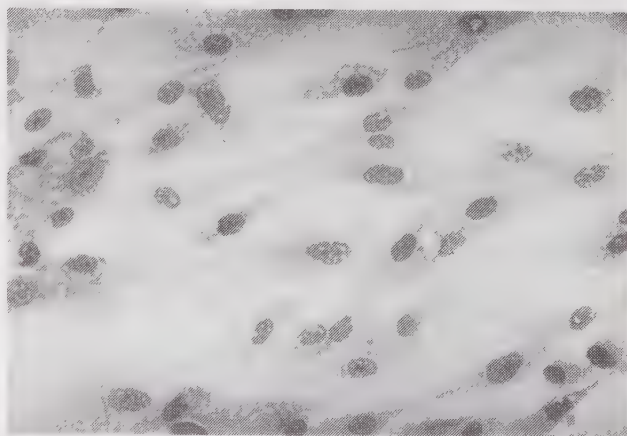
0,0317 g Parodontose-
salbe
materialnahe bis
Übergangszone mit poly-
morphem Zellbild und
Abkugelungen; auch
normal ausgebreitete
Zellen, sowie doppel-
kernige und Mitosen



Ausschnittsver-
größerung des
oberen Bildes

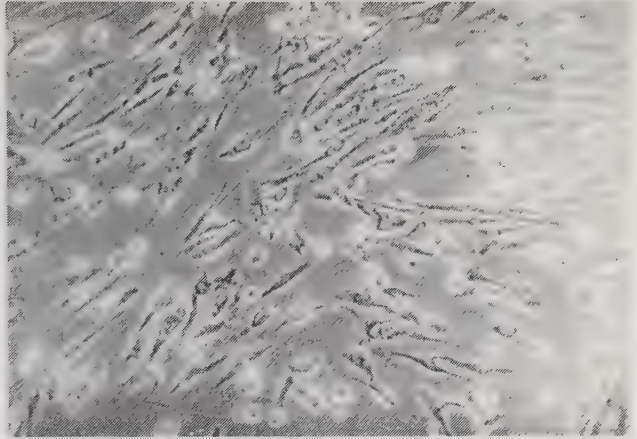


vakuolisierte
Zellen in der
Übergangszone,
0,0317 g Salbe

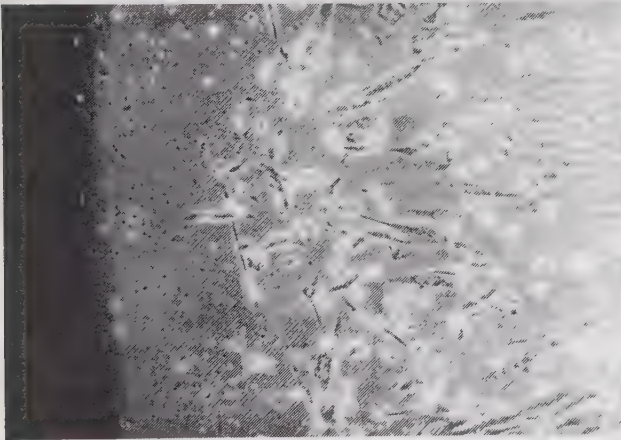


1.und 2.Bild:
Fibroblastenrasen
im Kontakt mit der
Salbe;
Konzentration
0,0317 g;
10. Tag nach Ansatz

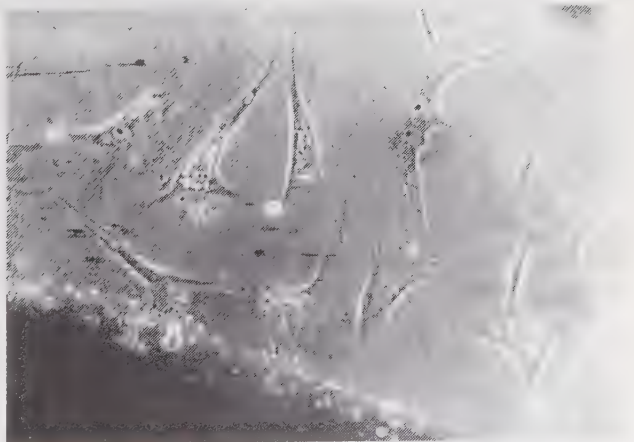
0,0392 g Salbe
Fibroblasten in der
Übergangszone am
8. Tag nach Ansatz;
Zunahme der stache-
ligen Dreiecksform



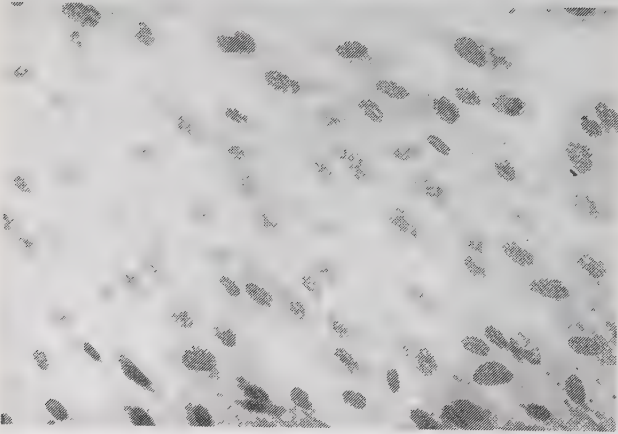
0,0283 g Salbe
Fibroblastenrasen
in Materialkontakt,
8. Tag nach Ansatz



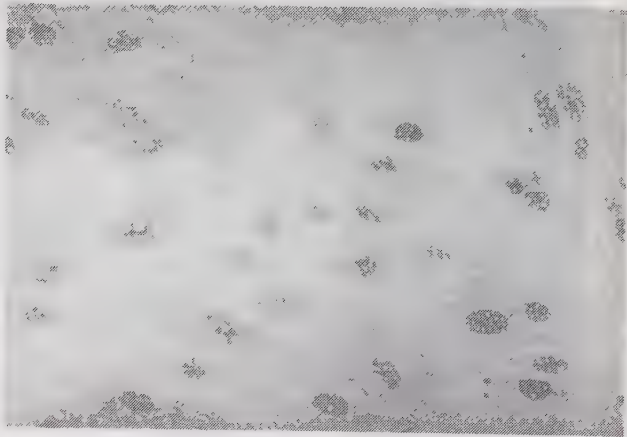
0,0317 g Salbe
15. Tag nach Ansatz
Starke Zunahme von
Dreiecksformen und
Vakuolisierungen
materialnaher Fibro-
blasten



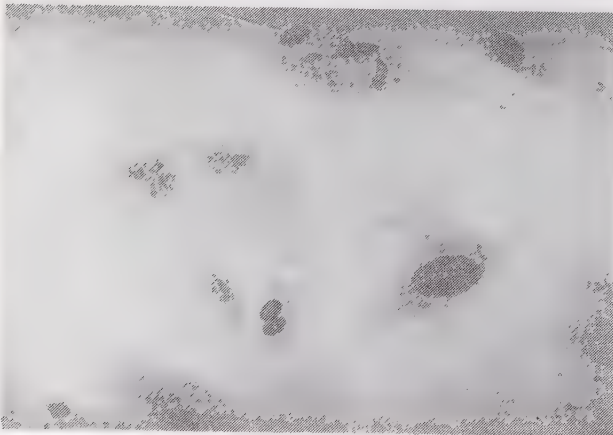
Fotos zu P4



Fibroblastenrasen
in Zellkontrolle

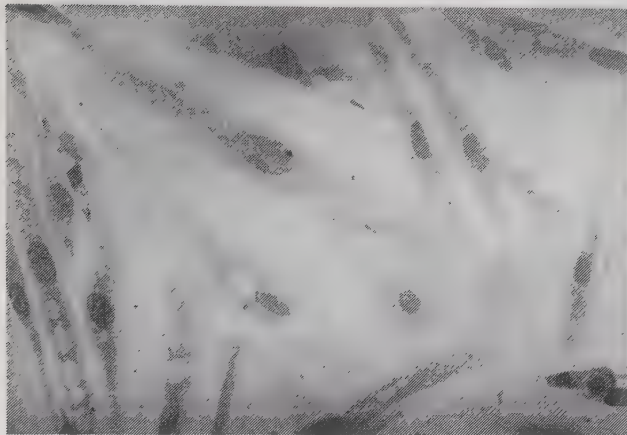


stark vakuolisierte
Zellen bei 0,03 g
Parodontosesalbe



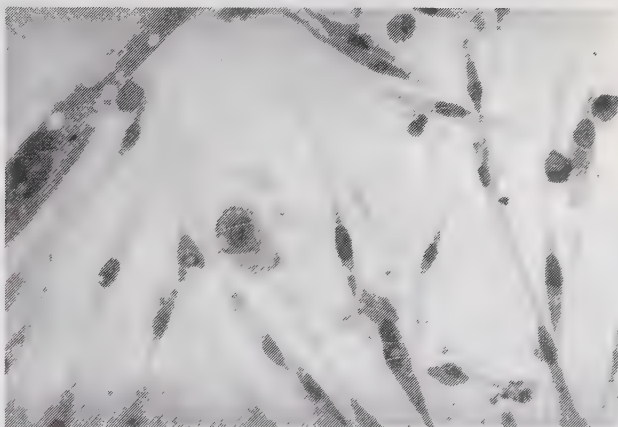
0,03 g Salbe
doppelkernige Zellen

Alle drei Fotos wurden von der Petrischale mit der Salbenmenge 0,04 g gemacht.

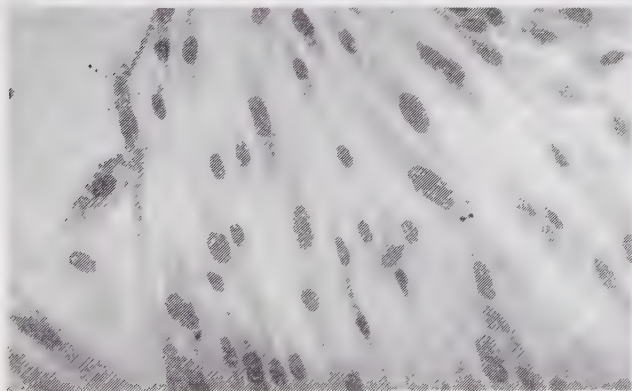


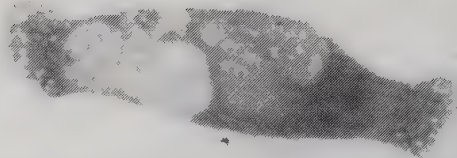
stark vakuoli-
sierte Zellen in
der Übergangszone

polymorphes
Zellbild in der
Übergangszone:
Abkugelungen,
spitze Stachelformen
Vakuolisierungen,
Doppelkernige,
atypische Mitosen,
Riesenzellen

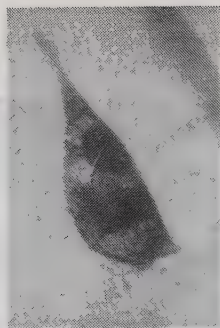


dagegen am
Schalenrand
nahezu normale
Fibroblasten

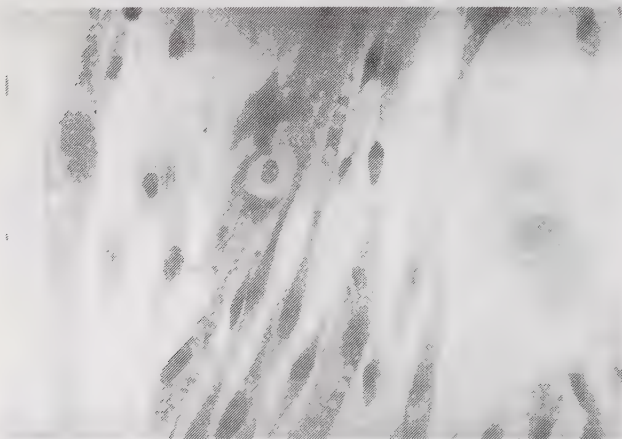




links: Zelle mit Riesenvakuolen im
Hemmhof



rechts: doppelkernige und vakuolisierte Zelle;
beide Aufnahmen entstammen aus der Petrischale mit der Salbenkonzentration
0,04 g Parodontosesalbe

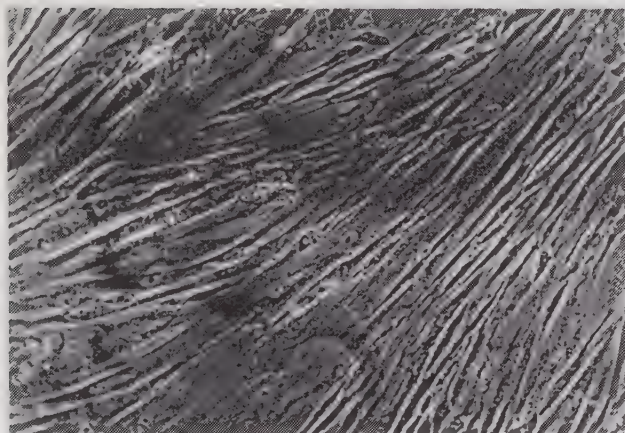


3. und 4. Bild:
0,06 g Salbe
selbst in der
äußeren Randzone
zeigen die Fibro-
blasten Degenera-
tionserscheinung

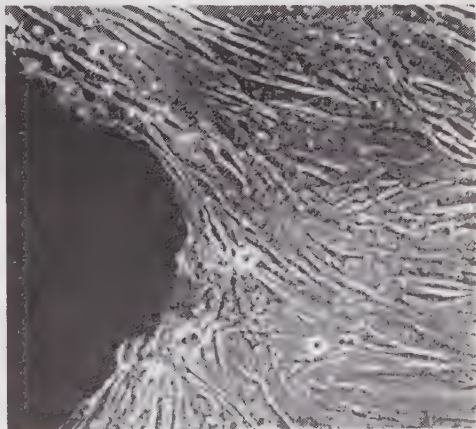


Von der Versuchsreihe P5 wurden keine Fotos angefertigt,
da der Versuchsaufbau mit dem von P4 identisch ist.

Fotos von P6



Zellkontrolle
13. Tag nach
Versuchsansatz;
die Fibroblasten
haben einen
gleichmäßigen
Rasen gebildet



0,01 g Parodontosesalbe: links am 6. Tag nach Ansatz,
rechts am 13. Tag; die Fibroblasten gedeihen gut im direk-
ten Kontakt zur Salbe bei dieser geringen Konzentration

Alle Fotos entstanden am 6. Tag nach Versuchsansatz



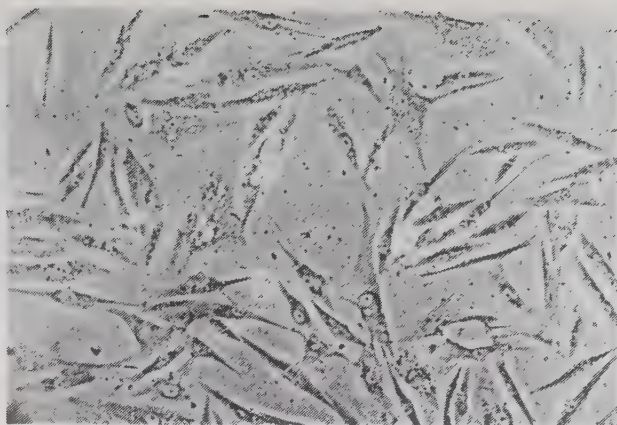
0,02 g Parodontose-
Salbe
Übergangszone
Fibroblasten
zeigen Vakuolen-
bildung und
Membranveränderung

0,03 g Parodontose-
Salbe
äußerster Petri-
schalenrand
obwohl die Zellen
weiter vom Test-
material entfernt
sind, sind die
Schäden die gleichen
wie oben

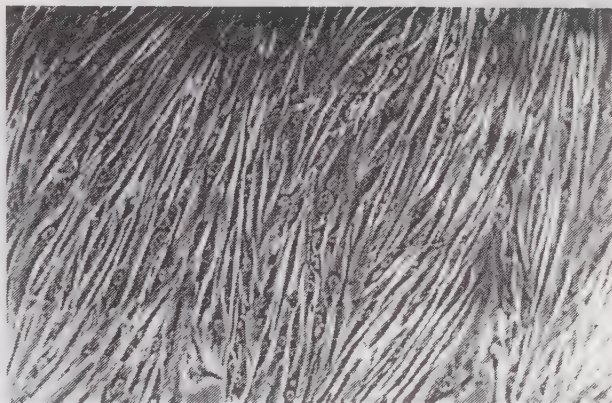


0,05 g Parodontose-
Salbe
äußerster Petrischalen-
rand
die wenigen Zellen,
die sich hier noch
befinden, sind alle
schwer geschädigt

0,005 g
 Procain-HCl/Petri
 24 Std. nach
 Versuchsansatz
 Bereits jetzt ist
 eine starke Vakuo-
 lenbildung zu
 erkennen

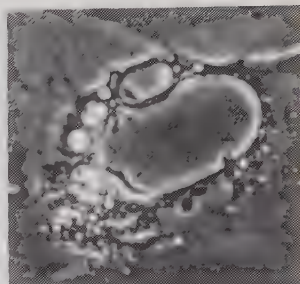
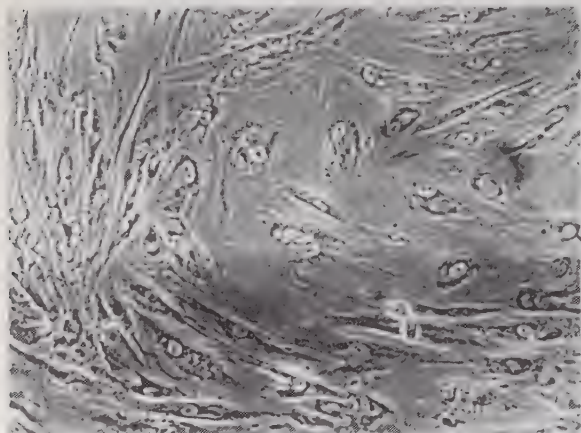


0,001 g
 Procain-HCl/Petri
 3. Tag nach Ansatz
 ziemlich normal
 aussehender,
 gleichmäßig
 gewachsener
 Fibroblastenrasen



0,001 g
 Procain-HCl/Petri
 6. Tag nach Ansatz
 viele mehrkernige
 Fibroblasten





0,003 g Procain-HCl
Riesenvakuole
(kleines Bild oben rechts)

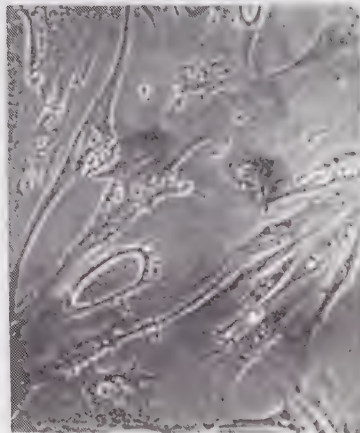
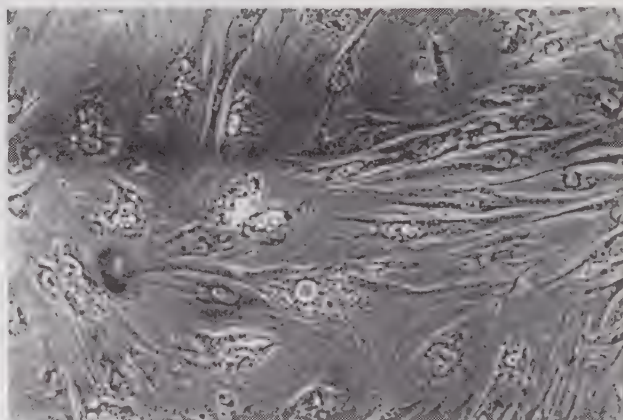
oben links:
0,002 g Procain-HCl
Vakuolisierung und
Doppelkernigkeit

Mitte: 0,003 g Procain-HCl
Vakuolisierung und
Doppelkernigkeit

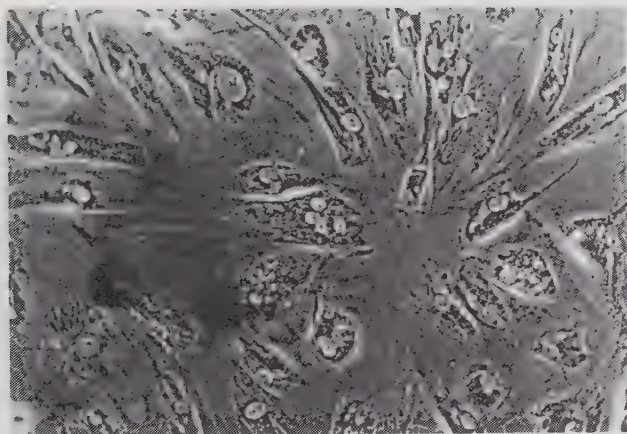
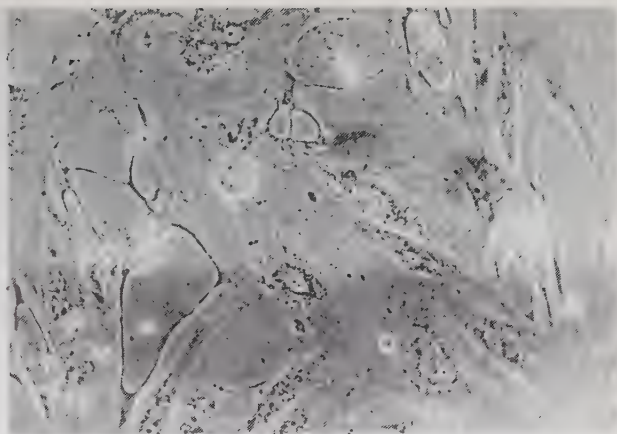
unten links:
0,004 g Procain-HCl

unten rechts:
0,005 g Procain-HCl

bei beiden Konzentrationen
nur noch spitze stachelige
Dreiecksformen
(rechts eine Riesenvakuole)

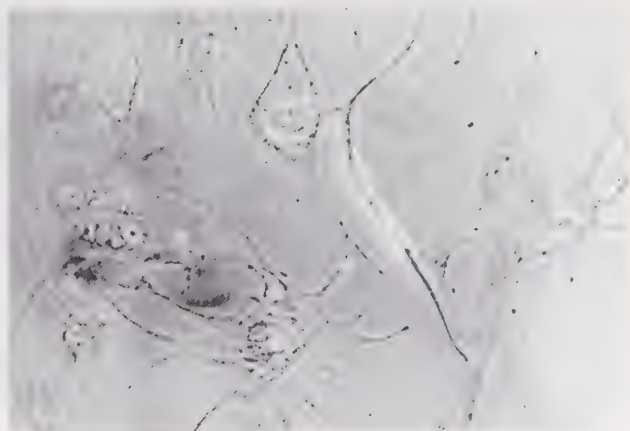


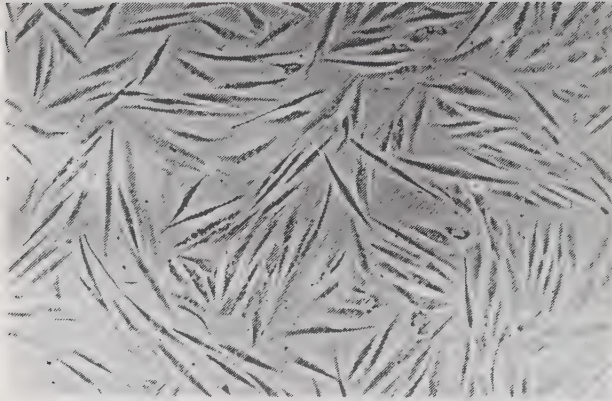
0,005 g Procain-HCl
8.Tag nach Ansatz
Riesenvakuolen



0,003 g Procain-HCl
13. Tag nach Ansatz
Mehrkernigkeit (Bild-
mitte), Riesenkern
(11 Uhr-Position zum
Rand hin), gelappter
Kern (unten rechts im
Bild)

0,005 g Procain-HCl
13. Tag nach Ansatz
Totale Zerstörung





Alle Fotos entstanden 24 Stunden nach Versuchsansatz

Links: Zellkontrolle

Mitte: Procain-HCl

0,4 mg/ml

Doppelkernige Zellen

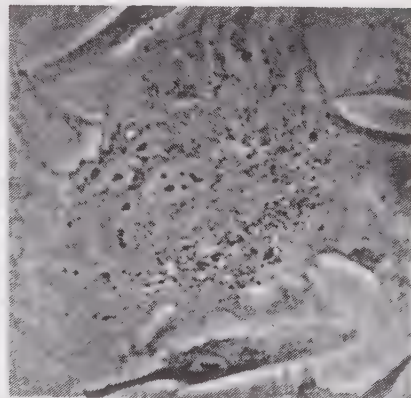
Unten: Procain-HCl

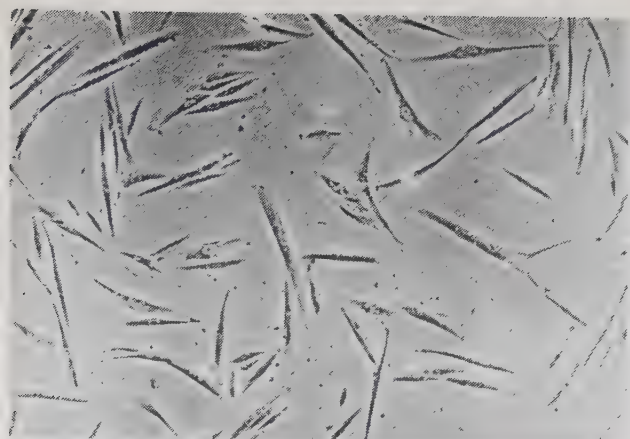
0,5 mg/ml

Riesenzelle mit vier Kernen, stark granuliert, leicht vakuolisiert;

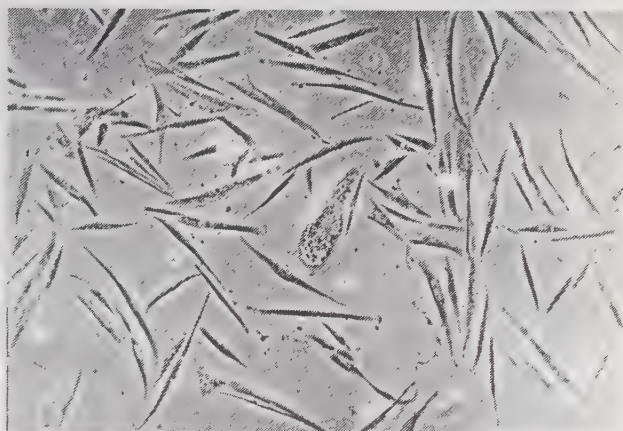
Unten rechts:

Ausschnittsvergrößerung





Procain-HCl
0,7 mg/ml



Procain-HCl
0,8 mg/ml
Die Tendenz zur
konzentrations-
abhängigen
verstärkten
Vakuolisierung
wird deutlich

Unten: Ausschnitts-
vergrößerung vom
mittleren Bild



Alle Fotos
entstanden
24 Stunden nach
Versuchsansatz



Links: Zellkontrolle



Rechts: 0.05 mg/ml Procain-HCl

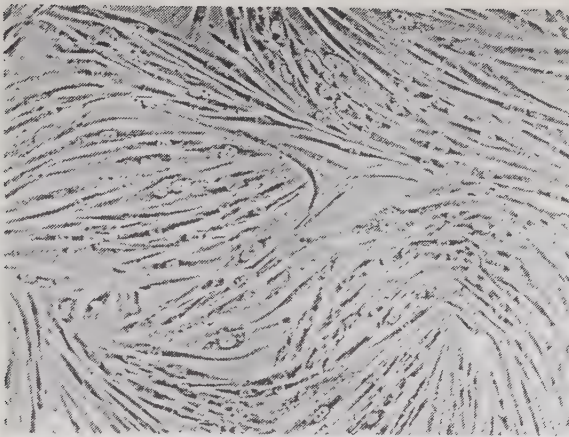


Links: 0,1 mg/ml ;



Rechts: 0,15 mg/ml Procain-HCl

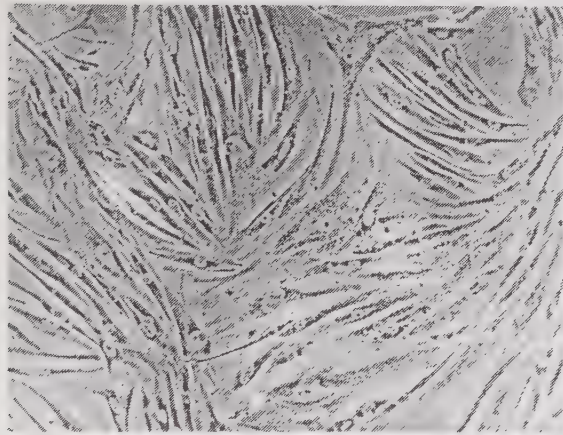
Bei diesen noch sehr geringen Procain-HCl-Konzentrationen wächst der Fibroblastenrasen gleichmäßig und dicht. Die beiden letzten Bilder zeigen jedoch bereits eine beginnende Zunahme von Granulierung und Vakuolisierung.



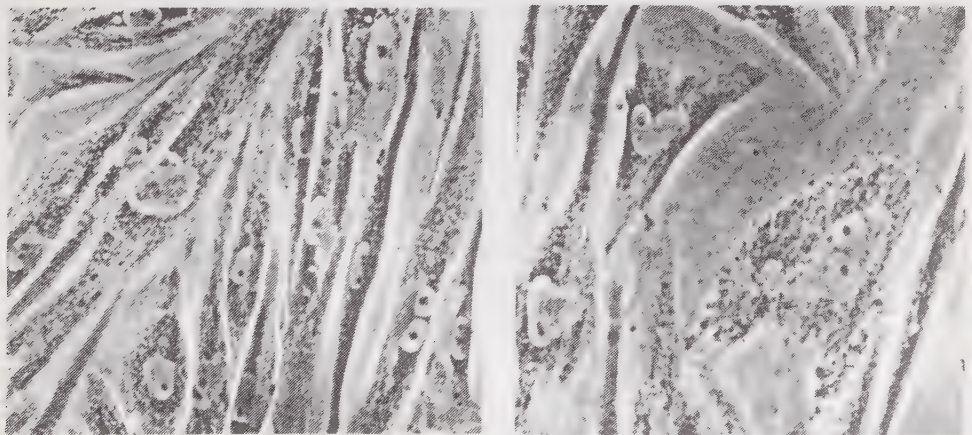
Alle Fotos entstanden
am 5. Tag nach Ver-
suchsansatz

Oben: Procain-HCl
0,6 mg/ml

Mitte: 0,7 mg/ml
Zunahme der spitzen,
dürren Fibroblasten-
form, verstärkte
Granulierung



Unten rechts und links:
Procain-HCl 0,8 mg/ml
Doppelkernigkeit



Diskussion

Das Parodontaltherapeutikum "Spezial-Parodontose-Salbe" von Dr. Sacher wurde in sechs verschiedenen Versuchen an Fibroblastenkulturen auf seine biologische Wirksamkeit hin untersucht. Zum Teil im sechsten und in einem siebenten Versuch ausschließlich wurde die Wirkung reinen Procain-Hydrochlorids der Wirkung der procainhaltigen Salbe gegenübergestellt.

Ab einer Konzentration von ca. 20 mg/Petri bei der Spezial-Parodontose-Salbe und von 1 mg/Petri bei reinem Procain-Hydrochlorid wurden in den Zellkulturen umfangreiche Schädigungen der Fibroblasten beobachtet. Bis zu diesen oben angegebenen Testmaterialkonzentrationen konnte in den Petrischalen ein normales Fibroblastenwachstum festgestellt werden. Anfänglich vorhandene Hemm- und Übergangszonen beim Salbentest wurden auf Grund des vom Schalenrand zum Petrizentrum gerichteten Wachstumsdruck der Zellen mit der Zeit soweit besiedelt, bis die Fibroblasten in unmittelbarem Kontakt zur Salbe gedeihen konnten.

Vergleicht man diese Feststellung mit der Socketoluntersuchung Heidemanns (s.o.), der bis zu einer Socketolkonzentration von 1,8 mg/Petri Materialkontakt hatte, so drängt sich der Schluß auf, daß reines Procain-HCl zwar weniger verträglich, die Parodontosesalbe jedoch 10 mal gewebsfreundlicher als Socketol ist.

Obgleich die Versuchsbedingungen annähernd dieselben waren wie die der Untersuchung von Heidemann, so wäre es trotzdem vermessen hinsichtlich der Verträglichkeit der beiden Materialien vergleichende Schlüsse zu ziehen.

Eine eventuell bestehende verschiedenartige Löslichkeit der beiden Salben, Unterschiede im Zellkulturmilieu, sowie im Medium und eine Reihe anderer Faktoren machen einen exakten Vergleich der beiden Tests nicht möglich.

Allein die Schwankungen und Widersprüchlichkeiten in den Ergebnissen aus den einzelnen Versuchen dieser Arbeit verbieten dies.

Es soll hier lediglich festgestellt werden, daß sich ähnlich wie bei den Materialtests von Socketol und Terracortril-Salbe durch Heidemann bei relativ niedrigen Konzentrationen eine gute Zellverträglichkeit herausgestellt hat.

Jenseits dieser verträglichen Materialkonzentration haben die Fibroblasten jedoch umfangreiche Schädigungen gezeigt, die sich didaktisch aufteilen lassen in

innere Schäden, welche sich manifestieren in
verstärkter Granulierung des Zytoplasmas,
Vakuolisierung,
Abschnürung von Plasmateilen sowie
Aufblähung des Zelleibs,
Plasmaverarmung der Zelle sowie
Kernveränderungen jeglicher Art

und

äußere Schäden, die mit einer Abkugelung der Zelle beginnen und schließlich nach Verlust der Haftung an der Schalenoberfläche zum Zelltod führen.

Bei der Zellbeobachtung fielen als Ausdruck der inneren Schädigung die verschiedenen Veränderungen des Zellkerns auf:

Es gab Fibroblasten mit merkwürdig gelappten Kernen, Riesenkernen und mit doppelten, ja sogar drei und noch mehreren Kernen. Und es gab Zellen mit untergegangenen Kernen.

Gewisse Andersartigkeiten des Kernes bei Überfunktion müssen jedoch von wirklichen degenerativen Veränderungen abgegrenzt werden.

So schreiben P. GEDIGK und V. TOTOVIC³², daß unter physiologischen Bedingungen bei erhöhten Anforderungen der Interphasenkern eine "funktionelle Kernschwellung" erfahren kann. Dabei geht die Kernvolumenzunahme mit einer Hydratation und Entspiralisierung der Chromosomen einher, was sich in einer Aufhellung des Karyoplasmas äußert.

Die nächsten beiden Möglichkeiten der Zelle, länger-dauernden erhöhten Stoffwechselanforderungen gerecht zu werden, sind die Polyplloidisierung und die Ausbildung mehrkerniger Riesenzellen.

Bei der Polyplloidisierung wird der diploide Chromosomensatz der Zellen geradzahlig vervielfältigt. Man spricht von Endoreduplikation, wenn sich die DNS ohne Sichtbarwerden von Chromosomen redupliziert, und von Endomitose, wenn sich die Chromosomen vervielfachen, ohne daß die Kernhülle sich auflöst und die Teilung vollzogen wird. Dabei können die Kerne eine riesige und auch sehr unregelmäßige Gestalt erreichen. Zellen mit polyploiden Kernen findet man unter normalen Bedingungen zu ca. 20% in der Leber und im hypertrophierten Herzmuskel.

Kommt es nach einer Endomitose zu einer amitotischen Teilung eines polyploiden Kernes, wobei die Zytoplasmateilung nicht stattfindet, so entstehen mehrkernige Riesenzellen.

Nach Meinung der Autoren sind mehrkernige Riesenzellen bereits Ausdruck krankhafter Prozesse und eines "fehlgeleiteten, zellgefährdenden Stoffwechsels (z.B. bei malignen Tumoren)".

Ein anderer Mechanismus für die Entstehung mehrkerniger Riesenzellen, ist die Verschmelzung einkerniger Zellen, die häufig bei erhöhter Resorptionsleistung stattfindet.

Von der funktionellen muß die "degenerative Kernschwellung" abgegrenzt werden. Auch hier nimmt der Zellkern an Volumen zu, Karyoplasma und Nukleolus hellen sich auf. Grund dafür ist das Versagen der Natriumpumpe der Kernhülle auf Grund toxischer Schädigung der Zelle oder Sauerstoffmangel.

Die degenerative Kernschwellung ist zunächst reversibel.

Werden aber schließlich Kernwandhyperchromatosen beobachtet, worunter man verklumpte und kondensierte Chromatinschollen versteht, die sich zumeist der Kernmembran anlagern, so ist der Schaden bereits irreversibel und der Kern zum Untergang geweiht.

Eine andere degenerative Veränderung des Kerns ist seine Verkleinerung bzw. Verdichtung, die ein Zeichen von Altersatrophie darstellt.

Weitere Merkmale der irreversiblen Kernschädigung, die zum Zelltod führt, sind die

Karyorrhesis - Zerfall des Kerns in mehrere dichte Chromatinbrocken - , die

Karyopyknosis- Zusammenschrumpfung des Kerns bis zu einer einzigen dichten Scholle - und die

Karyolyse , die die völlige Auflösung des Kerns darstellt.

Als letzte Kernatypie sei die Kernhyperchromasie erwähnt, die bereits die maligne Entartung der Zelle darstellt. Der vergrößerte und unregelmäßig geformte Kern weist grobe Chromatinschollen auf und besitzt einen abnormen "aneuploiden" Chromosomensatz, dessen DNS-Gehalt sich durch ungeradzahlige Vervielfältigung gebildet hat (im Gegensatz zur normalen "euploiden" geradzahligen Vervielfältigung).

Die bis hierhin besprochenen Kernveränderungen stellen Atypien des Interphasenkerns dar.. Diskutiert werden müssen noch die Mitoseanomalien.

Die Mitose einer Zelle wird vornehmlich in den ersten beiden Teilungsphasen gestört.

So schreibt Johannes HAAS³³ 1955, daß eine Bremsung der Prophase Chromosomenverklumpung und Fragmentierung verursache. Die meisten toxischen Einwirkungen auf die Mitose betreffen jedoch die Metaphase. Hier wird die Bildung der Spindel und ihre Funktion gestört. Die Zellteilung wird auf dem Stadium der Metaphase blockiert. Als Folge dieser Blockierung können drei Dinge geschehen:

1. Die Chromosomen können sich rekonstruieren, und es bildet sich entweder ein einziger Kern mit doppeltem Chromosomensatz, oder aber
2. die Chromosomen verteilen sich im Zytoplasma und bilden viele kleine Kerne.
3. Bei fehlender Chromosomenrekonstruktion kann die Mitose im Stadium einer "arretierten Metaphase" stehenbleiben, wobei sich die gepaarten Chromatiden entweder zusammenklumpen oder getrennt bleiben.

Als Ursache der Mitosestörung werden von dem Autor drei mögliche Mechanismen ins Auge gefaßt:

- Blockierung des genetischen Codes durch Anlagerung einer toxischen Substanz an die Nukleinsäure der Chromosomen;
- Blockierung oder Inaktivierung von funktionell bedeutsamen SH-Gruppen;
- Störung der energieliefernden Reaktion, der Spaltung von ATP, für den Ablauf der Kontraktion des Spindelapparats.

Brigitte MAUERSBERGER³⁴ macht 1971 sog. "suboptimale Milieubedingungen" für Kernveränderungen und Mitoseanomalien in Zellkulturen verantwortlich.

Folgende Faktoren spielen für sie eine Rolle:

"unzureichendes Sauerstoffangebot,
Ansammlung von Stoffwechselendprodukten,
unzureichende Zusammensetzung des Nährmediums.....,
pH-Verschiebungen,
Temperaturveränderungen,
Einschleppung toxischer Substanzen,
latente Infektionen u.a."

Die Plasmaverarmung von Zellen ist Ausdruck einer "einfachen Atrophie". Nach Gedigk und Totović(s.o.) wird unter "einfacher Atrophie" die Verkleinerung der Zelle verstanden.

Sie sei der "numerischen Atrophie", der Verminderung der Zellzahl, gegenübergestellt.

Beide Formen der Atrophie müssen aufgefaßt werden als eine Schutzreaktion der Zellen auf eine Verschlechterung der Umweltbedingungen. So ist es der Zelle immerhin möglich zu überleben, auch wenn sie in ihrer Funktion eingeschränkt ist.

Das Gegenteil der Plasmaverarmung - Aufblähung des Zelleibs sowie Abschnürung von Plasmateilen - ist eine Folge von Permeationsstörungen.

Störungen des Energiehaushalts auf Grund von Sauerstoffmangel oder eine Läsion der Zellmembran bei Aufnahme toxischer Stoffe verursachen eine Störung des aktiven Transports, der sogenannten Natriumpumpe.

Derselbe Vorgang, der wie oben beschrieben zur Kernschwellung führt, führt hier zum Zellödem.

Na^+ - Ionen werden retiniert, K^+ - Ionen ausgeschwemmt, jedoch wird mehr Na^+ retiniert als K^+ ausgeschwemmt.

Auf Grund des osmotischen Druckgefälles strömt H_2O in die Zelle hinein. Kolbige Auftreibungen und blasenförmige Zytoplasmaausstülpungen (Potozytosen) sind die Konsequenz. Letztendlich kommt es zum Zerreißten der Zellmembran mit Zytoplasmafreisetzung.

Die letzten beiden Veränderungen der Zellen, die als Ausdruck innerer Schädigungen beobachtet wurden, sind die verstärkten Vakuolenbildungen und Granulierungen des Zytoplasmas.

Vakuolisierungen sind Ausdruck umfangreicher meist konfluierender Dilatationen von Zellorganellen wie Mitochondrien, Endoplasmatisches Retikulum, Golgi-Apparat und Lysosomen.

Ist es bei einer Zelle soweit gekommen, daß die Mitochondrien vakuolig transformiert sind, so liegt bereits ein irreversibler Schaden vor.

Der Grund ist eine Reduktion der Energieproduktion bei Sauerstoff- und Nahrungsmangel sowie Einwirkung toxischer Stoffe.

Die verstärkte Granulierung des Zytoplasmas scheint ebenfalls ein Anzeichen für eine irreversible Mitochondrienschädigung zu sein. Die lichtmikroskopisch sichtbaren Granula können amorphe Einschlüsse in den geschwollenen Mitochondrien sein, die sich aus Lipiden und Proteinen - zugrundegegangene Mitochondrienbausteine - zusammensetzen.

Die Dilatation der Zisternen des Endoplasmatischen Retikulums ist ebenfalls ein Zeichen für Degeneration und Zelltod. Große lichtmikroskopisch sichtbare Hohlräume können dabei entstehen, die sich noch mehr vergrößern bei Desorganisation der Zisternen, die normalerweise gestapelt nebeneinanderliegen.

Genauso wie das Endoplasmatische Retikulum verhält sich der Golgi-Apparat.

In der Regel gehen diese Dilatationen mit einem allgemeinen Zellödem einher.

Ein weiterer Grund für vermehrte Granula im Zytoplasma ist ein Überangebot von Substanzen, die von den Lysosomen - von einer Membran begrenzte Ein-

schlußkörper mit enzymatischer Verdauungspotenz - nicht abgebaut werden können.

Spricht man von einem Überangebot, so muß differenziert werden zwischen einem tatsächlichen Überangebot, oder aber einer Schädigung lysosomaler Enzyme, so daß die Zelle mit einem normalen Substratangebot nicht fertig werden kann.

Es soll noch erwähnt werden, daß eine weitere Möglichkeit der Zellzerstörung durch folgenden Vorgang gegeben ist:

Wiederum auf Grund der Einwirkung der üblichen schädigenden Faktoren (Sauerstoffmangel, Infektionen, Giftstoffe u.a.) kann die lysosomale Grenzmembran aufgelöst werden, so daß die in den Lysosomen enthaltenen Verdauungsenzyme in das intrazelluläre Zytoplasma freigesetzt werden. Dabei findet eine Autolyse der Zelle statt, die sich in umschriebene "herdförmige Zytoplasmanekrosen" äußert, die lichtmikroskopisch als große Vakuolen in Erscheinung treten.

Auf Grund meiner lichtmikroskopischen Untersuchungen ist es nicht möglich, eine Aussage zu machen, inwieweit die beobachteten Veränderungen und Schäden in den mit der Spezial-Parodontose-Salbe und Procain-Hydrochlorid versetzten Zellkulturen den von mir diskutierten Schädigungsmechanismen entsprechen. Eine eingehende elektronenmikroskopische Untersuchung wäre notwendig.

Festgestellt worden ist jedoch, daß es tatsächlich zu einer vielfältigen Schädigung der Fibroblasten gekommen ist, die umso größer wurde, je mehr man die Konzentration des Testmaterials erhöht hat.

Bei einer Salbenkonzentration von 70 mg/Petri war die totale Zellschädigung erreicht. Der Petrischalenboden war nahezu leer, und nur am Rand der Schale konnten einige wenige zerstörte Fibroblasten ausgemacht werden.

Bei dem zum Vergleich gemachten Versuch mit reinem Procain-Hydrochlorid wurden schwere Zellschäden ab einer Konzentration von 4 mg/Petri festgestellt: Riesenzellen, Mehrkernigkeit und Riesenvakuolen. Führt man sich nun noch einmal vor Augen, daß die Salbe ja in reichlich ungenauer Dosierung in das Parodontium appliziert wird (einzige Herstellerangabe: nicht mehr als eine Ampulle pro Quadrant und Sitzung), so ist es nicht unwahrscheinlich, daß die Salbe in gewissen Schlupfwinkeln (tiefe Zahnfleischtaschen und interdentale Knochenkrater) über längere Zeit in hoher Konzentration verbleibt, ohne daß sie vom Speichel abgeschwemmt wird, und dort mehr schadet als nutzt. Nur kurz anschneiden möchte ich schließlich noch, daß die beschriebenen Kernveränderungen (Mehrkernigkeit und Riesenkerne) - wie oben bereits diskutiert - schon Kriterien für eine Entartung der Zellen darstellen. Obgleich solche Veränderungen auch in den Zellkontrollen beobachtet wurden, waren sie doch in den Testpetrischalen höher. Nach Prüfung aller Umstände ist jedoch der Überlegung der Vorrang zu geben, daß die Ursachen für diese Veränderungen in erster Linie an der Behandlung der Kulturen und am Medium liegen. Die allgemein schädigende Wirkung des Testmaterials hat offensichtlich die Kernveränderungen lediglich beschleunigt.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde das von Dr. Sacher entwickelte Parodontaltherapeutikum "Spezial-Parodontose-Salbe", welches als Wirkstoff hauptsächlich Procain-Hydrochlorid enthält und die instrumentelle Parodontalbehandlung überflüssig machen soll, mittels Zellkulturen auf seine biologische Wirksamkeit überprüft.

In sieben Versuchsreihen wurden Kulturen, die aus menschlichem Gingivagewebe nach Exzision bei einer operativen Weisheitszahnentfernung gewonnen wurden, für den Versuch eingesetzt.

Der erste Versuch stellte einen Vorversuch dar. Untersucht wurde die Wirkung des zu testenden Therapeutikums "Spezial-Parodontose-Salbe" an den aus den Gewebsstückchen, die aus dem exzidierten Gingivagewebe herauspräpariert worden waren, herausgesprossenen Epithelzellrasen und Fibroblasten. Den eigentlichen Test stellten die anderen sechs Versuchsreihen dar. Er wurde durchgeführt an einschichtigen Fibroblastenkulturen, die durch Passagierung aus den Gewebsstückchen entsprossenen Fibroblasten entstammten.

In der zweiten bis zur sechsten Versuchsreihe wurde den Petrischalen das zu überprüfende Salbenpräparat in jeweils steigender Konzentration zugesetzt, indem abgewogene Salbenstränge auf den Schalenboden gegeben wurden. Dann wurde eine Fibroblastensuspension in die Schale eingesät und das Wachstum des sich ausbildenden Zellrasens beobachtet.

Im zweiten Anteil der sechsten Versuchsreihe und im siebenten Versuch wurde zum Vergleich zur procainhaltigen "Spezial-Parodontose-Salbe" die Wirkung von reinem Procain-Hydrochlorid auf die Fibroblastenkulturen beobachtet.

Festgestellt wurde, daß die Fibroblasten bis zu einer Salbenkonzentration von ca. 20 mg/Petri ein annähernd normales Aussehen hatten und normal wuchsen. Ein anfänglicher Hemmhof wurde auf Grund des Wachstumsdrucks der Fibroblasten schließlich bewachsen, so daß die Zellen in direktem Kontakt zur Salbe lebensfähig waren, obgleich sich ihre Gestalt zu einer atrophisch abgekugelten oder dünnen Form wandelte. Bei steigender Konzentration der Salbe vergrößerte sich auch die Hemm- und Übergangszone. Dabei wurden massive Zellveränderungen beobachtet. Die Fibroblasten gaben ihre normale schlanke Form auf und nahmen entweder eine atrophisch abgekugelte oder spitze, dünne und dreieckige Form an. Das Zytoplasma der Zellen zeigte außerdem verstärkte Granulations- und Vakuolenbildung, sowie Potozytoseerscheinungen, blasenförmige Zytoplasmaausstülpungen. Einige Riesenzellen und Kernatypien wurden ebenfalls beobachtet.

Ab einer Konzentration von 70 mg Parodontosesalbe/Petri konnte von einer totalen Schädigung der Fibroblastenkultur gesprochen werden. Bis auf einige wenige zerstörte Zellen am Petrischalenrand waren die Schalen nahezu leergefegt. Der gesamte Schalenboden war sozusagen Hemmhof. Beim Test mit reinem Procain-Hydrochlorid, das in der Schale gelöst und somit gleichmäßig verteilt war, konnten selbstverständlich keine Hemm- und Übergangszonen als Schadenskriterien herangezogen werden. Bis zu einer Konzentration von 1 mg Procain-HCl/Petri wurde ein normales Fibroblastenwachstum festgestellt. Bei steigender Konzentration stellten sich jedoch Veränderungen der Fibroblasten in der oben beschriebenen Art und Weise ein. Eine genaue Angabe über eine Grenzkonzentration zur

totalen irreversiblen Zellschädigung ist bei diesem Test nicht machbar. Es läßt sich aber sagen, daß ab einer Konzentration von 4 mg Procain-HCl/Petri eine sehr starke Anhäufung von Riesenzellen mit Riesenvakuolen und Mehrkernigkeit (nicht nur einfach Doppelkernigkeit) vorgefunden wurde.

Bis zu dieser Konzentration waren solche massiven Zellveränderungen nicht beobachtet worden.

Die angeblich stoffwechselaktivierende und somit heilende Wirkung des Präparats von Dr. Sacher, dessen hauptsächlicher Wirkstoff das Procain-Hydrochlorid ist, kann auf Grund dieser vorliegenden Untersuchung nicht bestätigt werden.

Manche zellulären Veränderungen mögen zwar einem erhöhten Stoffwechsel entspringen und reversibel sein. Bei höherer Konzentration des Präparats zeigen die Veränderungen allerdings bereits die Zeichen des irreversiblen Zelluntergangs.

Daraus muß folgender Schluß gezogen werden:

Am Patienten wird die Salbe in ungenauer Dosierung an seinen Wirkungsort, das erkrankte Parodontium, gebracht. Zu hohe Konzentrationen sind durchaus möglich an Stellen erhöhter Retention wie interdentale Knochenkrater und tiefe Taschen.

Dort kann die Salbe mehr schaden als nutzen.

Eine instrumentelle Parodontalbehandlung unter Lokalanästhesie ist in bedeutend weniger Sitzungen ohne Belästigung für den Patienten durchgeführt und hat sich gegenüber jeder medikamentösen Behandlung als die bessere Therapie durchgesetzt.

Überdies verbietet die Ätiologie der Parodontitiden, daß eine solche Behandlung, deren mögliche schädliche Wirkung auf das Gingivagewebe in dieser Arbeit unter Beweis gestellt wurde, als eigenständige und nicht nur symptomatische Therapie eingesetzt wird.

Literaturverzeichnis

1. CHAIKIN, Richard W.
"Grundlagen der neuzeitlichen
Parodontalchirurgie"
Berlin, 1977
Quintessenz Verlag
2. LANGE, Dieter E.
"Parodontologie in der
täglichen Praxis"
Berlin, 1983
Quintessenz Verlag
3. ORBAN, Balint
"Parodontologie"
Berlin, 1965
Quintessenz Verlag
4. SAUERWEIN, Ernst
"Zahnerhaltungskunde"
Stuttgart, 1976
Thieme Verlag
5. GLICKMAN, I.
"Clinical Periodontology"
Philadelphia 1972
4. Auflage, Saunders
6. RATEITSCHAK, RENGGLI, MÜHLEMANN
"Parodontologie"
Stuttgart, 1978
Thieme Verlag
7. MENZEL, H.-J.
"Klinische Erfahrung mit Spiramycin
bei der Prophylaxe und zur Behand-
lung entzündlicher Erscheinungen
im Bereich der Mundhöhle"
Zahnärztliche Welt 69 (1968)
191

8. GALL, E.
"Die therapeutische Beeinflussung
der Parodontitis durch Spiramycin"
Schweizerische Monatsschrift für
Zahnheilkunde 80 (1970)
797
9. MILLS, W.H.; THOMPSON, G.W.; BEAGRIE, G.S.
"Clinical Evaluation of Spiramycin
and Erythromycin in Control of
Periodontal Disease"
Journal of Clinical Periodontology
1979 - 6 - 308
10. TRIADAN, H.; ERNI, E.; RÖTTIG, E.
"Wirksamkeit von Bactrim und Rova-
mycine auf die Parodontitis"
Acta Parodontologica.
Schweizerische Monatsschrift für
Zahnheilkunde 83 (1973)
828/118
11. PLAGMANN, H.-Chr.; LANGE, D.E.;
DENKS, A.
"Über den Nachweis antibakterieller
Substanzen im Speichel, in der
Mundflüssigkeit und in der Gingiva"
Dtsch. zahnärztl. Z.
28 (1973) 295
12. WILLIAMS, B.L.; OSTERBERG, S.K.-A.;
JORGENSEN, J.
"Subgingival Microflora of Perio-
dental Patients on Tetracycline
Therapy"
Journal of Clinical Periodontology
1979 - 6 - 210

13. HELLDEN, L.B.; LISTGARTEN, M.A.;
LINDHE, J.
"The Effect of Tetracycline
and/or Scaling on Human Perio-
dental Disease"
Journal of Clinical Periodontology
1979 - 6 - 222
14. GEHLEN, Ingrid
"Fluoreszenzmikroskopische
Untersuchungen der Tetracycline
am parodontalen Weichgewebe"
Inaug. Diss., Bonn 1968
15. GOTFRYD, A. & GOTFRYD, D.
"Über die Anwendung der Tetracyclin-
Abkömmlinge Aureomycin und Leder-
mycin zur lokalen Therapie der
Gingivitis ulcerosa"
DZZ - 17 - 1962 - Heft 11
760
16. FRALEIGH, C.M.
"An Evaluation of Topical Terramycin
in Postgingivectomy Pack"
The Journal of Periodontology,
27 - 201 , 1956
17. MITCHELL, D.F.; BAKER, B.R.
"Topical Antibiotic Control of
Necrotizing Gingivitis"
J. Periodont. 39 (1968) 81
18. MARXER, M.A.; STUDER-STÄHELI, Ch.
"Klinische Studie über die
Wirksamkeit von Insadol^R"
Acta Parodontologica
Schweiz. Mschr. Zahnheilk.
83 (1973) 828/118

19. NYMAN, S.; SCHROEDER, H.E.; LINDHE, J.
"Suppression of Inflammation
and Bone Resorption by Indomethacin
during Experimental Periodontitis in
Dogs"
Journal of Periodontology
Vol 50, No. 9, 450
1979
20. EIFINGER, F.F.
"Die Lokaltherapie akut entzünd-
licher marginaler Parodontopathien
mit einem Kortikoid-Präparat"
Dtsch. Zahnärzteblatt 19
(1965) 518
21. BAUMANN, Dieter
"Alveo-med und Dontisolon,
klinische Erfahrungen bei der
Behandlung entzündlicher Paro-
dontopathien"
Inaug.Diss., Bonn 1963
22. GLICKMAN, I.; PATUR, B.
"Histologic Study of the Effect
of Antiformin on the Soft Tissue
Wall of Periodontal Pockets in
Human Beings"
The Journal of The American Dental
Association, 51 - 420,
1955
23. BEUBE, Frank E.
"An Experimental Study of the
Use of Sodium Sulfid Solution
in Treatment of Periodontal Pockets"
J. Periodont. 10 - 49,
1939

24. MARTIN, J; BISHOP, J.G.;
GUENTHERMAN, R.H.; DORMAN, H.L.
"Cellular Response of Gingiva
to Prolonged Application of
Dilute Hydrogen Peroxid"
Journal of Periodontology
39 (1968) 208`
25. ORBAN, Balint
"Action of Oxygen on Chronically
Inflamed Gingival Tissue"
The Journal of The American Dental
Association, 29 - 2018,
1942
26. MILLER, S.C.; SORRIN, S.;
GREENHUT, W.H.; PELZER, R.H.
"Hydrogen Peroxide and Sodium
Perborate: Their Comparative
Oral Irritant Action"
The Journal of The American Dental
Association and The Dental Cosmos,
Vol. 25, Dec. 1938
1957
27. GLICKMAN, I; BIBBY, B.G.
"Effect of Sodium Perborate
upon the Gingival Mucosa:
A Controlled Experiment"
The Journal of The American
Dental Association, 31 - 1201,
1944
28. SACHER, Theodor
"Langzeitergebnisse des Rege-
nerationsverfahrens , einer neuen
Methode zur medikamentösen Behand-
lung der progredienten Parodontolyse
(sog. Parodontose)"
ZWR, 82. Jahrgang, Nr. 1&2

- SACHER, Theodor
 "Das Regenerationsverfahren,
 die aktuelle, praxisbezogene
 Parodontosetherapie"
 Sonderdruck aus Zahnärztl.Welt/Reform
 Heft 8, 83. Jahrgang 1974
29. BERGHÖFF, E.
 "Therapeutische Beeinflussung der
 Parodontose durch Procain-
 Hämatoporphyrin"
 Zahnärztliche Prax., 24 (10) 262
 18. Mai 1973
30. KHOSRAWI, Djalal
 "Klinische Untersuchungen über
 die Behandlung pathologischer
 Zahnfleischtaschen mit und ohne
 Medikament"
 Inaug. Diss., Mainz 1971
31. HEIDEMANN, D.
 "Die Bestimmung der Biokompatibili-
 tät von zahnärztlichen Materialien
 anhand primärer Zellkulturen"
 Sonderdruck aus
 Deutscher Zahnärztekalendar 1982
- HEIDEMANN, D.; LAMPERT, F.
 "Menschliche Gingiva in der
 Zellkultur"
 Sonderdruck aus
 Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift
 35. Jahrgang 1980
- HEIDEMANN, D.; GEURTSSEN, W.
 "Biologische Verträglichkeit von
 Socketol^R, untersucht an Hand
 zweier verschiedener Zellkultursysteme"
 Sonderdruck aus DZZ, 36. Jahrgang, 1981

32. GEDIGK, P.; TOTOVIĆ, V.
"Zell- und Gewebsschäden"
aus
"Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie
und der Pathologischen Anatomie"
Herausgegeben von M. Eder und p. Gedigk
Springer Verlag
Berlin 1984
33. HAAS, Johannes
"Physiologie der Zelle"
Verlag: Gebrüder Borntraeger
Berlin 1955
34. MAUERSBERGER, Brigitte
"Die tierische Zelle in Dauerkultur"
aus
"Aktuelle Probleme der Zellzüchtung"
Herausgegeben von Brigitte Mauers-
berger
Gustav Fischer Verlag
Stuttgart, 1971

Lebenslauf

Ich, Klaus Berger, wurde am 10. September 1953 in Krefeld-Uerdingen als Sohn von Josef Berger und Elisabeth Berger (geb. Keller) geboren.

Meine Volksschulzeit teilte sich folgendermaßen auf:

1960 - 1961 St. Peter Schule in Krefeld-Uerdingen;

1961 - 1964 Wannenschule in Witten.

Gymnasialzeit:

1964 - 1970 Gymnasium Fabritianum in Krefeld-Uerdingen;

1970 - 1973 Dilthey Gymnasium in Wiesbaden,
dort Erlangung des Zeugnisses der
Allgemeinen Hochschulreife am 13.6.1973.

Als Soldat auf Zeit diente ich im Anschluß an mein Abitur zwei Jahre in der Gneisenau Kaserne in Koblenz bis Ende 1975.

Das Studium der Zahnheilkunde nahm ich im Wintersemester 1975 an der Johannes-Gutenberg-Universität zu Mainz auf, wo ich das Staatsexamen am 15. Juni 1981 ablegte.

Mit Wirkung vom 22.7.1981 wurde meine Bestallung als Zahnarzt gültig.

Seitdem habe ich in verschiedenen freien zahnärztlichen Praxen als Assistenzarzt gearbeitet.

In Kürze plane ich meine Niederlassung.

